



# **Universidade dos Açores**

## **Departamento de Ciências Agrárias**

Desenvolvimento e crescimento da espécie de cogumelo  
*Pleurotus ostreatus* em garrafas de plástico reutilizado



Marcelo Gil Simões

Dissertação de Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar

**Realizado por:**

Marcelo Gil Simões

**Orientado por:**

Prof. Doutor João da Silva Madruga

Angra do Heroísmo  
2015

Dissertação apresentada à  
Universidade dos Açores  
Departamento de Ciências Agrárias  
para a obtenção do grau de Mestre  
em Tecnologia e Segurança Alimentar,  
no ano letivo de 2014/2015, sob a orientação do  
Professor Doutor João da Silva Madruga

“O pensamento é a verdadeira superpotência que governa o mundo. É mais forte do que qualquer força e mais poderoso do que qualquer potência.”  
Ralph W. Emerson  
(1803-1882)

## AGRADECIMENTOS

*À Deus que em todos os momentos da minha vida, ao Divino Espírito Santo por iluminar-me nos momentos mais difíceis e a Nossa Senhora pela paz espiritual que proporcionou-me ao longo do trabalho*

*Ao meu filho Filipe, força da minha razão de viver e energia da minha vida, dedico-o à minha esposa Ana pela lealdade, paciência e amor, bem como as críticas construtivas ao longo do trabalho, sem eles – a minha família, nada disto seria possível.*

*Aos meus pais por educarem-me com carinho, amor e dedicação, aos meus irmãos Simone e Geraldo que amarei sempre*

*À uma pessoa muito especial Maria das Dores Mesquita, mentora do meu projeto, fornecedora do micélio, conselheira técnica e um anjo na Terra*

*Ao Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos Açores na Pessoa do Professor Catedrático Alfredo Emílio Silveira de Borba pela permissão e apoio na realização deste trabalho de dissertação*

*Ao Doutor João Madruga da Silva por ter aceite ser meu orientador, pela total disponibilidade, paciência e perseverança por acreditar neste meu singelo trabalho o meu muito obrigado*

*Ao Doutor Henrique Rosa pela ajuda na análise estatística e incansável disponibilidade e ajuda na discussão de resultados da tese.*

*Ao Laboratório Regional de Veterinária na pessoa da Doutora Lúcia Flôr, pela permissão e apoio na realização de parte deste projeto; no Laboratório de Micologia, à Mestre Valentina Maria Melo Santos por toda a simpatia, disponibilidade e apoio que sempre demonstrou ao longo da realização prática deste trabalho, que não era possível sem o seu apoio, à sua assistente a Senhora Fátima Carreira pela colaboração incondicional nos trabalhos práticos e todos os funcionários que diretamente ou indiretamente contribuíram para a sua execução.*

*À minha amiga Lúcia Bettencourt pela ajuda na tradução do resumo em abstract e pela sua amizade que sempre prezei ao longo da vida.*

*À Professora Doutora Lurdes Enes Dapkevicius e ao marido Airidas Dapkevicius pela ajuda profissional, experiência prática e científica do trabalho, bem como toda a força amiga que impulsionou a realização deste trabalho.*

*à Berta e a D. Guida pela ajuda na disponibilidade no Laboratório de Microbiologia. à Monica e a Eng<sup>a</sup> Lurdes Matos pela ajuda e disponibilidade no Laboratório de Solos*

*À todos que direta ou indiretamente contribuíram para o resultado deste trabalho.*

## **DEDICATÓRIA**

*Ao meu filho Filipe, força da minha razão de viver e energia da minha vida, dedico-o.*

## ABREVIATURAS

AS <30 °C – Arrefecimento do substrato à temperatura inferior à trinta graus Celsius

CPC – Comprimento do pé do cogumelo (cm)

CPPO – Ciclo produtivo de *Pleurotus ostreatus*

DCC – Diâmetro do chapéu do cogumelo (cm)

DGPR 12 h – Desinfecção das garrafas de plástico reutilizado durante doze horas

DPGR – Desinfecção das garrafas de plástico reutilizado

DS – Desinfecção das salas

EGPR – Etiquetagem das garrafas de plástico reutilizado

FC – Fases de cultivo

GPR – Garrafas de plástico reutilizado

MC – Massa dos cogumelos (g)

SGPR 12 h – Secagem das garrafas de plástico reutilizado durante doze horas

CGPR – Corte das garrafas de plástico reutilizado

PSP – Preparação do substrato pasteurizado

TPR 2-5 cm – Trituração da palha regional em dois a três centímetros

HPR 24 h – Humidificação da palha regional durante vinte e quatro horas

CPRCAP – Colocação da palha regional em cestos de arame perfurado

PPR 71°C 2h – Pasteurização da palha regional setenta e um graus Celsius durante duas horas

ESTC – Escoamento do substrato tratado pelo calor

MSPR 2% CaCO<sub>3</sub> – Mistura do substrato de palha regional com dois por cento de carbonato de cálcio

ISPSM 3 a 8% PS – Inoculação do substrato pasteurizado com semente do micélio 3 a 8 por cento do peso do substrato

CGPR s/ luz 2-3 sem - Colocação das garrafas de plástico reutilizado sem luz durante duas a três semanas

FPPCFGPR 6d – Formação dos primeiros primórdios ou corpos de frutificação nas garrafas de plástico reutilizado durante seis dias

PFPCGPR - Primeiro fluxo de produção de cogumelos em garrafas de plástico reutilizado

FR 12 d – Fase de repouso de doze dias

SFPCGPR – Segundo fluxo de produção de cogumelos em garrafas de plástico reutilizado

FDSCGPR 4 d – Fase de desinfecção das salas de cultivo durante quatro dias

NCP – Novo ciclo de produção

L + D – Limpeza mais Desinfecção

MFC – Massa fresca de cogumelos

MFS – Massa fresca de substrato

MSS – Massa seca de substrato

NC – Número de cogumelos

PC – Peso dos cogumelos (g)

PMF – Peso da matéria fresca

PMS – Peso da matéria seca

SPT – Substrato de palha de trigo

SFB – Substrato de folhas de bananeira

SFA – Substrato de folhas de abacateiro

USDA – United States Department of Agriculture

VM – Valores médios

1ª F – Primeira frutificação

2ª F – Segunda frutificação

% H.R. - Percentagem de humidade relativa do ar

n – N° de amostras

°C - graus Celsius

g - gramas

## RESUMO

A presente tese de Mestrado insere-se no âmbito do Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar ministrado no Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos Açores e teve por base o trabalho experimental de produção, em pequena escala, da espécie *Pleurotus ostreatus* em garrafas de plástico reutilizado, recorrendo-se à utilização de três substratos: palha regional (100%) (Lote I); palha de trigo regional (50%) e 50% de folhas de bananeira (*Musa spp.*) (Lote II) e, finalmente, palha de trigo regional (50%) e 50% folhas de abacateiro (*Persea americana Mill.*) (Lote III). Com a utilização das garrafas de plástico reutilizado, pretendemos, do ponto de vista ecológico, permitir o aproveitamento da reutilização do plástico, transformando um resíduo de reciclagem num produto bio sustentável, económico e saudável – o cogumelo. Estes cogumelos são considerados muito interessantes do ponto de vista comercial, não só pelas suas características nutricionais, organolépticas e funcionais, mas também pela sua fácil manutenção e adaptação às condições climáticas, bem como o baixo custo relativo da cultura e o seu desenvolvimento e crescimento rápido. Os melhores resultados, ao nível da produção, conseguiram-se, no primeiro fluxo, no Lote II (substrato de palha de trigo com folhas de bananeiras) (13,32 gr). No segundo fluxo as produções foram inferiores. Porém foi, novamente, no Lote II que se conseguiram os melhores resultados médios (6,62 gr). Tal como se observou em relação ao peso médio de cogumelos conseguidos nos diferentes Lotes, a melhor eficiência biológica, no primeiro fluxo, foi obtida no Lote II (26,00%), e de (12,90%), no segundo fluxo. Em relação ao comprimento do pé o maior valor foi conseguido, igualmente, no Lote II quer no primeiro fluxo, quer no segundo, respetivamente 2,99 cm e 1,72 cm. No que concerne ao diâmetro do chapéu os melhores resultados foram conseguidos no Lote II (7,16 cm). Assim, os melhores resultados de produção conseguiram-se com o substrato à base de palha de trigo (50%) e de folhas de bananeira seca (50%).

**Palavras-chave:** Cogumelos, *Pleurotus ostreatus*, produção, garrafa plástico reutilizado.



## ABSTRACT

The present Master's degree theory is inserted in the context of the Master's degree in Technology and Food Security guard administered in the Department of Agrarian Sciences of the University of Azores and it took the experimental work of production as a base, in small scale, of the sort *Pleurotus ostreatus* in reused plastic bottles, resorting to the use of three substrates: regional straw (100 %) (Lot I); straw of regional wheat (50 %) and 50 % of leaves of banana tree (*Musa spp*). (Lot II) and, finally, straw of regional wheat (50 %) and 50 % leaves of avocado tree (*Persia americana* Mill). (Lot III). In this way, with the use and use of the bottles of re-used plastic, we can from the ecological point of view allow the use of the reuse of the plastic, turning a residue of recycling into a product bio sustainable, economically and healthy – the mushroom. These mushrooms are considered very interesting from a commercial point of view, not only for their nutritional, sensory and functional characteristics, but also for its easy maintenance and adaptation to climatic conditions as well as the relative low cost of culture and its development and rapid growth. The best results, at the level of the production, were got, in the first flush, in the Lot II (substrate of straw of wheat with banana trees leaves) (13, 32 g). In the second flush of the productions were lower. However it was, again, in the Lot II that got the best mean results (6,62 g). Such as there was observed regarding the mean weight of mushrooms got in the different Lots, the best biological efficiency, in the first flush, was obtained in the Lot II (26,00 %), and of (12,90 %), in the second flush. In relation to stipe length (cm) of mushrooms the largest value achieved was also Lot II in either the first flush or the second, respectively 2,99 cm and 1,72 cm. Regarding the pilei diameter (cm) of the mushroom the best results were achieved in the Lot II (7,16 cm). Thus, the best production results achieved with the substrate based wheat straw (50%) and dried banana leaves (50%).

**Keywords:** Mushrooms, *Pleurotus ostreatus*, production, reused plastic bottle.

## ÍNDICE

<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>iv</b>
<b>DEDICATÓRIA.....</b>	<b>v</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>vi</b>
<b>DEDICATÓRIA.....</b>	<b>v</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>ix</b>
ÍNDICE.....	x
ÍNDICE DE TABELAS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>xvii</b>
<b>ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO.....</b>	<b>xviii</b>
<b>1.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>1</b>
1.1. Os cogumelos comestíveis.....	1
1.2. Reino do Fungos.....	3
1.3. Biologia dos Cogumelos.....	4
1.4. Caracterização geral do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	7
1.4.1. Ciclo de vida do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	9
1.4.2. Composição nutricional do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	11
1.4.3. Propriedades funcionais do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	15
1.4.4. Fases de cultivo do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	17
1.4.4.1. Fase de colonização micelial ou incubação.....	17
1.4.4.2. Fase de frutificação ou produção.....	18
1.4.4.3. Fase de repouso.....	20
1.4.4.4. Fase de desinfecção da sala.....	20
1.4.5. Fluxograma de etapas de cultivo do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> em garrafas de plástico reutilizado.....	21
1.4.6. Importância da reciclagem e/ou reutilização de resíduos orgânicos na produção de cogumelos <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	23
1.4.6.1. Preparação do substrato.....	26
1.4.6.2. Os substrato mais utilizados.....	26
1.4.6.2. 1. Palha de Trigo.....	26
1.4.6.2. 2. Folhas de bananeira ( <i>Musa spp</i> ).....	27
1.4.6.2. 3. Folhas de abacateiro ( <i>Persea americana Mill</i> ).....	28
1.4.6. 3. Método de tratamento .....	29
1.4.6. 3. 1 Pasteurização por imersão em água quente .....	30
1.4.7. Método de Kissan-Kerala (Índia).....	31

1.4.7.1. Aplicação prática do Método Kissan-Kerala com garrafas de plástico reutilizado na produção de cogumelos <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	31
1.4.8. Produção e Eficiência Biológica dos cogumelos <i>Pleurotus ostreatus</i> em garrafas de plástico reutilizado.....	33
<b>2.MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
2.1. Material utilizado.....	34
2.1.1. Preparação do substrato.....	35
2.1.2. Tipos de substratos.....	35
2.1.2.1. Palha de trigo.....	35
2.1.2.2. Folhas de bananeira ( <i>Musa spp.</i> ).....	36
2.1.2.3. Folhas de abacateiro ( <i>Persea americana Mill</i> ).....	37
2.2. Método de tratamento.....	38
2.2.1. Pasteurização por imersão em água quente.....	38
2.2.2. Materiais e equipamentos necessários.....	38
2.3. Fases do processo de produção de cogumelos <i>Pleurotus ostreatus</i> em garrafas de plástico reutilizado.....	39
2.3.1. Recolha de garrafas de plástico reutilizado.....	39
2.3.2. Lavagem e tratamento asséptico das garrafas plástico reutilizado.....	39
2.3.3. Fase de inoculação (spawn) das garrafas plástico reutilizado.....	40
2.3.4. Fase de incubação das garrafas de plástico reutilizado.....	41
2.3.5. Fase de frutificação das garrafas de plástico reutilizado.....	42
2.3.6. Pesagem e recolha das amostras de cogumelos <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	43
2.4. Medição de Temperatura (°C) e Humidade Relativa do Ar(%) na sala de cultivo.....	43
2.5. Métodos analíticos.....	44
2.6. Análise estatística.....	44
<b>3.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>45</b>
3.1. Evolução da humidade no substrato.....	45
3.2. Produção (%) nos Lotes I, II e III.....	47
3.3. Eficiência Biológica (%) nos Lotes I, II e III.....	51
3.4. Comprimento do pé (cm) e diâmetro do chapéu(cm) nos Lotes I, II e III.....	55
3. 5. Análises Químicas.....	61
<b>4.CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>64</b>
<b>5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>81</b>
ANEXO I - Amplitude de temperaturas para realizar/otimizar o desenvolvimento micelial (dm) e a frutificação para as espécies diferentes de cogumelos do género <i>Pleurotus spp.</i> , com as técnicas apropriadas para a preparação do substrato.....	82
ANEXO II - Fórmulas utilizadas na validação da metodologia.....	83

ANEXO III – Análise Estatística da Produção do 1.º Fluxo (Lotes I, II e III).....	84
ANEXO IV – Análise Estatística da Produção do 2.º Fluxo (Lotes I, II e III).....	85
ANEXO V – Análise Estatística da Eficiência Biológica 1.º Fluxo (Lotes I, II e III).....	86
ANEXO VI – Análise Estatística da Eficiência Biológica 2.º Fluxo (Lotes I, II e III).....	87
ANEXO VII – Análise Estatística das médias do comprimento do pé (cm) dos cogumelos no 1º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III).....	88
ANEXO VIII – Análise Estatística das médias do comprimento do pé (cm) dos cogumelos no 2º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III).....	89
ANEXO IX – Análise Estatística das médias do diâmetro do chapéu (cm) dos cogumelos no 1º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III).....	90
ANEXO X – Análise Estatística das médias do diâmetro do chapéu (cm) dos cogumelos no 2º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III).....	91
ANEXO XI – Comparação entre os parâmetros morfométricos (comprimento do pé, em cm, e diâmetro do chapéu, em cm) no Lote I, na produção total (nos dois fluxos).....	92
ANEXO XII – Comparação entre os parâmetros morfométricos (comprimento do pé, em cm, e diâmetro do chapéu, em cm) no Lote II, na produção total (nos dois fluxos).....	93
ANEXO XIII – Comparação entre os parâmetros morfométricos (comprimento do pé, em cm, e diâmetro do chapéu, em cm) no Lote III, na produção total (nos dois fluxos).....	94
ANEXO XIV – Análise Estatística entre os parâmetros morfométricos (comprimento do pé, em cm, e diâmetro do chapéu, em cm) nos três Lotes, na produção total (primeiro fluxo).....	95
ANEXO XV – Análise Estatística entre os parâmetros morfométricos (comprimento do pé, em cm, e diâmetro do chapéu, em cm) nos três Lotes, na produção total (segundo fluxo).....	96

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela.1 - Classificação taxonómica do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> (fonte: Alexopoulos et al.,2006).....	3
Tabela.2 - Análise centesimal dos cogumelos: <i>Agaricus bisporus</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> e <i>Lentinus edodes</i> (Manzi et al.,2001, Cheung,2008) <sup>a</sup> %N X 4,35; <sup>b</sup> Calculados por diferença (%Matéria Seca-%Proteína-%Cinzas %Gordura).....	11
Tabela.3.Estudo comparativo da composição mineral com outros autores – Valores convertidos em g.kg <sup>-1</sup> (para macro) e g.kg <sup>-1</sup> (para micronutrientes) (fonte: Sales-Campos et al,2009).....	14
Tabela.4 - Etapas de Limpeza (L) + Limpeza + Desinfecção (L+D) nas salas de cultivo de cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> (fonte: Manual de Higienização. Indústria Alimentar. Apontamentos MTSA-GQ Prof <sup>a</sup> Lurdes Dapkevicius,2014).....	20
Tabela.5 - Vantagens e desvantagens de diferentes tratamentos pelo calor (Adaptado de Oei, 2006).....	30
Tabela.6 - Cronograma do ciclo de produção <i>Pleurotus ostreatus</i> em garrafas de plástico reutilizado: 1.Fases do Cultivo: Fase de inoculação, Fase de incubação (ou de colonização micelial), Fase de frutificação (1 <sup>º</sup> s primórdios e colheita de cogumelos) e a Fase de repouso (feito pelo autor).....	46
Tabela.7 - Dados analíticos do substrato dos diferentes lotes (Joana Moreira,2012).....	62
Tabela.8 - Valores de celulose, hemicelulose e lenhina nos diferentes lotes (autor,2015).....	62
Tabela.9 - Composição química e digestibilidade da palha de trigo (Borba, 1982).....	62
Tabela 10 –Dados analíticos do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivados em substrato de trigo (Lote 1)...	63
Tabela 11 - Composição química de cogumelos (adaptado de Kalac, 2013).....	63

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura.1 - Espécie de cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> (foto do autor,2015).....	2
Figura.2 - Estrutura de um <i>Basidiomycota</i> (esquema e foto do autor,2015).....	4
Figura.3 - Ciclo de vida de cogumelos na Natureza (Fonte: Oei, 2006).....	5
Figura.4 - Partes constituintes dos cogumelos (fonte: <a href="http://www.micobiotas.fc.ul.pt/CentroMicologia">http://www.micobiotas.fc.ul.pt/CentroMicologia</a> Fonte:Folha Viva n.º31,Abril/Junho 2005 pg.5).....	6
Figura.5 - Diferentes formas que podem assumir às várias partes dos cogumelos (fonte: <a href="http://www.micobiotas.fc.ul.pt/CentroMicologia">http://www.micobiotas.fc.ul.pt/CentroMicologia</a> -Fonte:Folha Viva n.º31,Abril/Jun).....	7
Figura.6 - Metodologia de cultivo e colheita de cogumelos – (Fonte:Stamets,2000).....	9
Figura.7 - Ciclo de vida dos cogumelos a semente. Isolam-se as culturas de tecido dum cogumelo e propagam-se num substrato apropriado. Quando plenamente colonizado, este substrato é usado no cultivo de cogumelos (Fonte:Oei,2006).....	11
Figura.8 Ação de Imunidade Humoral e Celular (Adaptado: Color Atlas of Hematology,1992).....	16
Figura.9 - Fase de incubação ou de colonização micelial (foto do autor,2015).....	18
Figura.10 - Fase de frutificação (foto do autor,2015).....	19
Figura.11 - Fluxograma das fases do processo de produção de cogumelos <i>Pleurotus ostreatus</i> em garrafas de plástico reutilizado (feito pelo autor,2015).....	22
Figura.12-Rumo a uma economia circular (fonte: <a href="http://ec.europa.eu/environment/news/efe/articles/2014/08/article_20140806_01_pt.htm">http://ec.europa.eu/environment/news/efe/articles/2014/08/article_20140806_01_pt.htm</a> ).....	23
Figura.13 - Esquema da função desempenhada pelas enzimas degradadoras de materiais lignocelulósicos através da morfogénese dos basidiomicetos (fonte: Rajarathnam et al.,1992).....	25
Figura.14- Spawn de <i>Pleurotus ostreatus</i> (adquirido pelo autor na empresa Bioinvitro em Junho de 2015) (foto do autor,2015)).....	34
Figura.15 - Tipos de substratos utilizados (foto do autor,2015).....	35
Figura.16 - Palha de trigo (foto do autor,2015).....	36
Figura.17 - Folhas de bananeira ( <i>Musa spp.</i> )(foto do autor,2015).....	36
Figura.18 - Folhas de abacateiro ( <i>Persea americana</i> Mill) (foto do autor,2015).....	37
Figura.19 - Cesto cilíndrico de rede de arame (foto do autor,2015).....	38
Figura 20 - Apanha-moscas (Kyzone) e colocação na sala de cultivo (fotos do autor, 2015).....	40
Figura.21 - Fase de incubação ou colonização micelial – garrafa 22 (Lote III) (foto do autor,2015).....	41
Figura.22- Fase de frutificação – pequenos primórdios ou corpos iniciais de frutificação – garrafa 13 (Lote II) (foto do autor,2013).....	42

Figura.23 - Evolução da T(°C)/H.R.(%) nas fases de crescimento(incubação e frutificação) <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	43
Figura.24 - Gráfico de variação da biomassa nos 3 lotes de substratos (I,II e III) (dados estatísticos no Anexo III ).....	45
Figura.25 - 1º Fluxo de produção no Lote I – Palha de trigo (100%).....	47
Figura.26 - 1º Fluxo de produção no Lote II – Palha de trigo (50%) +Folha de bananeira (50%) ( <i>Musa spp.</i> ).....	47
Figura.27 - 1º Fluxo de produção no Lote III – Palha de trigo (50%) +Folha de abacateiro (50%) ( <i>Persea americana</i> Mill).....	47
Figura.28 - Média dos pesos no 1º Fluxo de produção nos Lote I, II e III.....	48
Figura.29 - 2º Fluxo de produção no Lote I – Palha de trigo (100%).....	49
Figura.30 - 2º Fluxo de produção no Lote II – Palha de trigo (50%) +Folha de bananeira (50%) ( <i>Musa spp.</i> ).....	49
Figura.31 - 2º Fluxo de produção no Lote III – Palha de trigo (50%) +Folha de abacateiro (50%) ( <i>Persea americana</i> Mill).....	49
Figura.32 - Média dos pesos no 2º Fluxo de produção nos Lote I, II e III.....	50
Figura.33 - Correlação entre as produções ao nível do primeiro e do segundo fluxo.....	51
Figura.34 - Eficiência Biológica (%) no 1º Fluxo de produção no Lote I.....	52
Figura.35 - Eficiência Biológica (%) no 1º Fluxo de produção no Lote II.....	52
Figura.36 - Eficiência Biológica (%) no 1º Fluxo de produção no Lote III.....	52
Figura.37 - Gráfico das médias de eficiência biológica (%) dos cogumelos no 1º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III).....	53
Figura.38 - Eficiência Biológica (%) no 2º Fluxo de produção no Lote I.....	53
Figura.39 - Eficiência Biológica (%) no 2º Fluxo de produção no Lote II.....	54
Figura.40 - Eficiência Biológica (%) no 2º Fluxo de produção no Lote III.....	54
Figura.41 - Gráfico das médias de eficiência biológica (%) dos cogumelos no 2º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III).....	54
Figura.42 - Gráfico das médias do comprimento do pé (cm) dos cogumelos no 1º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III).....	55
Figura.43. Gráfico das médias do comprimento do pé (cm) dos cogumelos no 2º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III).....	56
Figura.44 - Gráfico das médias do diâmetro do chapéu (cm) dos cogumelos no 1º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III).....	56
Figura.45 - Gráfico das médias do diâmetro do chapéu (cm) dos cogumelos no 2º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III).....	57
Figura.46. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote I, no 1º fluxo de produção.....	58
Figura.47. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote 2, no 1º fluxo de produção.....	58
Figura.48. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote 3, no 1º fluxo de produção.....	59
Figura.49. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote 1, no 2º fluxo de produção.....	59

Figura.50. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote 2, no 2º fluxo de produção.....	59
Figura.51. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote 3, no 2º fluxo de produção.....	60
Figura.52. Regressão linear entre o diâmetro médio do chapéu e o comprimento médio do pé.....	60
Figura.53. Regressão linear entre o diâmetro médio do chapéu e o comprimento médio do pé.....	61



## INTRODUÇÃO GERAL

Os cogumelos constituem um grupo de organismos que, durante longos anos, se enquadraram, em termos classificativos, entre os vegetais. Porém, a partir da década de 60 do século passado foram, devido às suas características peculiares, colocados num reino autónomo, o *Reino Fungi* (Alexopoulos et al., 1996).

Com base nas suas características, os fungos são definidos como organismos eucariotas que produzem esporos, que não possuem clorofila nem celulose na sua parede celular sendo esta constituída, na maioria das vezes, por  $\alpha$ -quitina. São seres heterotróficos, obtendo o seu alimento por absorção e armazenam o glicogénio como substância de reserva (Kirk et al., 2008).

A utilização de substratos vegetais à base de palha tem vindo a assumir uma importância crescente na cultura de cogumelos sapróbios, principalmente do género *Pleurotus*. Estes cogumelos são considerados muito interessantes do ponto de vista comercial, não só pelas suas características organoléticas e nutricionais, mas também pela sua fácil adaptação e manutenção, crescimento rápido e relativo custo baixo de cultura (Sapata et al., 2011).

A cultura de cogumelos comestíveis a partir de resíduos agroindustriais tem-se revelado uma alternativa para melhor aproveitamento desses resíduos, uma vez que no final da cultura obtém-se, por um lado, um produto de elevado valor nutricional e gastronómico – cogumelos e, por outro lado, um resíduo com grande potencial de aplicação em ração animal, uma vez que já foi parcialmente digerido pelo complexo lignocelulolítico do fungo (Nigam & Singh, 1996; Patrabansh e Madan, 1997).

De entre os resíduos agroindustriais, destacamos as folhas de bananeira, as quais constituem um resíduo representativo no panorama regional e local, devido à sua alta produtividade e à sua grande expressão em relação às áreas plantadas (Bonatti et al., 2003).

Os cogumelos do género *Pleurotus* spp. são ricos em proteínas, fibras, hidratos de carbono, vitaminas, aminoácidos essenciais e não essenciais, além de minerais como cálcio, potássio, iodo e fósforo, representando uma ótima alternativa de nutrição. Os seus níveis de proteínas são maiores até do que os de alguns legumes e vegetais. No entanto, essa composição depende do tipo de substrato, das metodologias de cultivo e das espécies cultivadas (Bano & Rajarathnam, 1982).

Cultivos de cogumelos do género *Pleurotus* spp. realizados com resíduos de bananeira vêm obtendo resultados satisfatórios no que diz respeito à produção enzimática, à degradação do substrato e à produtividade obtida no cultivo (Carvalho et al., 2010; Motato et al., 2006; Sturion, 1994).

Embora não seja uma cultura com grande expressão entre nós estudamos, igualmente, a possibilidade de utilização de folhas de abacateiro como substrato para a produção, em garrafa, de cogumelos.

Resumidamente, a tese de Mestrado incide essencialmente na produção, em pequena escala, desta espécie *Pleurotus ostreatus* produzido com palha regional, palha regional com mistura de folhas de bananeiras (50% : 50%) e palha regional com folhas de abacateiros (50% : 50%) humedecida com águas por submersão, com a qual pretendemos criar um novo produto regional dos Açores – o cogumelo “gourmet” de origem regional (Made in Azores).

## ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação encontra-se estruturada em cinco partes fundamentais, nomeadamente a revisão bibliográfica (1), material e métodos (2), resultados e discussão (3), conclusões e considerações finais (4) e referências bibliográficas (5).

Na revisão bibliográfica abordam-se, inicialmente, os cogumelos comestíveis de um modo geral e a sua importância na biologia, ecologia e funcionamento do ecossistema terrestre, e de um modo particular do cogumelo *Pleurotus ostreatus* sob o seu ponto de vista morfológico, taxonómico, das particularidades do cultivo, da sua composição nutricional, da sua importância na alimentação humana e nos processos de reciclagem e/ou reutilização de resíduos orgânicos utilizados na produção de cogumelos.

Foi realizado o estudo do desenvolvimento e o crescimento da espécie *Pleurotus ostreatus* em garrafas de plástico reutilizado em três diferentes tipos de substratos.

Na parte de material e métodos, foram descritos os diferentes tipos de substrato, assim como a técnica de produção (recurso a garrafas) bem como dos materiais e equipamentos utilizados na determinação da temperatura (°C) e da humidade relativa do ar (%) durante o processo de cultivo do *Pleurotus ostreatus*, adaptado do Método Kissan-Kerala (KAU, 2014).

No que concerne aos resultados e discussão faz-se, em primeiro lugar, a apresentação e discussão dos resultados dos parâmetros quantitativos: a produção (%) e da eficiência biológica (%) nos diferentes substratos que são comparados entre si e discutidos com a bibliografia da especialidade.

Em relação aos parâmetros morfológicos foram analisados os valores do comprimento do pé (cm) e o do diâmetro do chapéu (cm) dos cogumelos nos diferentes lotes de substratos estudados.

Realizou-se, igualmente, o estudo dos parâmetros de validação da temperatura (°C) e da humidade relativa do ar (%), de acordo com os critérios estabelecidos pelas organizações científicas internacionais, apresentando e discutindo os resultados obtidos nas amostras dos 3 lotes diferentes de substrato (palha de trigo, folha de bananeira e folha de abacateiro) no desenvolvimento e crescimento da espécie *Pleurotus ostreatus*.

No final da dissertação apresenta-se uma sucinta compilação das conclusões gerais do trabalho efetuado, assim como perspectivas de novos estudos sobre o tema.

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Os cogumelos comestíveis

A utilização de cogumelos, não só como alimento, mas também como produto utilizado na medicina tradicional, é referenciada em quase todas as regiões do Mundo. Data dos tempos mais remotos o interesse por esta cultura, muito embora não existam documentos que refiram, com exatidão, ao início da sua utilização como alimento (Ramos *et al.*, 2011).

A sua cultura (Micicultura), com uma longa tradição no Sudeste Asiático através do cultivo da *Auricularia auriculina-judae* (Bull. ex St. Amans) Wettst, somente a partir do séc. XVII se expandiu na Europa, mais propriamente em França, com o cultivo de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, e nos Estados Unidos da América e Canadá com a *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler ("Shiitake") (Sánchez e Royse, 2001).

No início do século passado, era frequente a colheita de cogumelos encontrados em troncos de árvores abatidas, cuja inoculação ocorria, naturalmente, através dos esporos libertados pelas espécies de cogumelos existentes no local (Rollan, 2003), assim como colhidos do próprio solo.

Foi, porém, nos finais da década de 50 do século XX que se realizaram as primeiras experiências do seu cultivo comercial utilizando-se, como substrato, a serradura e, no início dos anos 60, da palha de cereal (Bononi *et al.*, 1999), a qual tem vindo a diversificar-se, nos últimos anos, com a introdução de outras espécies como as do género *Pleurotus*.

As espécies de *Pleurotus*, popularmente conhecidas como cogumelos ostras, são cultivados, principalmente no Sudeste Asiático, na Índia, na Europa e na África (Silva *et al.*, 2002). Para além da sua importância económica, é fungo decompositor de madeiras e vários outros substratos (Mandeeel *et al.*, 2005).

A divulgação do cultivo de *Pleurotus ostreatus* tem vindo a assumir uma grande importância agroalimentar a nível mundial, uma vez que é um produto de fácil cultivo, de boa produtividade e boa rentabilidade (Carlile *et al.*, 2001).



Figura 1 – Espécie de cogumelo *Pleurotus ostreatus* (foto do autor, 2015)

Hoje em dia, dada a preferência dos consumidores por produtos frescos pouco processados, o sector industrial tem sido incentivado a desenvolver e aplicar técnicas que contribuam para a simplificação dos processos de produção e conservação tendo em vista o seu consumo o mais possível em condições *in natura* (Nicolas e Hammond, 1974; Gormley, 1975; Burton, 1991; Tano *et al.*, 1999).

Os cogumelos comestíveis são apreciados em todo o Mundo não só pela sua aparência, textura e sabor, mas, muitas vezes, pelas suas propriedades funcionais e nutricionais (Sapata *et al.*, 2011), devido à existência de compostos bioativos, nomeadamente, ergosterol (precursor da vitamina D2), compostos fenólicos, tocoferóis, ácido ascórbico e carotenoides, responsáveis pela atividade antioxidante, pelo que podem ser associados à promoção da saúde (Ricardo, 2013). De igual modo, têm sido reportadas atividades pré-biótica, antioxidante e anti-inflamatória (Azevedo *et al.*, 2012).

Algumas espécies demonstram ter ação imunomoduladora, isto é, atuam ao nível do sistema imunitário, condicionando a resposta imunológica, com efeito anti tumoral ou imunodepressor. São, ainda, usadas no tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares como hipertensão, hipercolesterolémia, cancro e diabetes (Helm *et al.*, 2009).

O cogumelo *Pleurotus* adapta-se a uma grande diversidade de substratos sem necessitarem de sofrer um processo prévio de compostagem apresentando, ainda, a potencialidade de desenvolverem crescimentos muito rápidos dado que se desenvolvem em condições ambientais de grande amplitude térmica (Zadrazil, 1984; Apati, 2004).

Atualmente os sistema de cultura mais modernos, em ambiente controlado, permitem obter cogumelos, ao longo de todo o ano, com ciclos de produção mais curtos, maior produtividade e melhor qualidade do produto, sem que para isso sejam necessários instalações muito específicas e dispendiosas, permitindo ainda, reciclar determinados resíduos agrícolas e agroindustriais, como por exemplo, palha de cereais, carolo e moinho de milho e resíduos de hortofrutícolas, como folhas de bananeira, polpa de café, bagaço de cana-de-açúcar constituindo uma valência para regiões que possuam materiais capazes de satisfazer este tipo de cultura (Ramos *et al.*, 2004; Moda *et al.*, 2005; Moura, 2008).

Os fungos são, na sua grande maioria, saprófitas, ou seja, produzem enzimas que hidrolisam a matéria orgânica morta que os rodeia estando, nesta categoria, inseridos os cogumelos comestíveis do

gênero *Pleurotus*. Todavia, podem ser, também, classificados como parasitas pois recebem o alimento do corpo dos hospedeiros, prejudicando-os, ou com benefício para ambos (Alexopoulos *et al.*, 1996; Bononi *et al.*, 1999).

Algumas espécies de fungos podem ser, ocasionalmente, tanto saprófitas como parasitas, o que lhes permite agirem de acordo com a oportunidade apresentada pelo ambiente, pelas condições do substrato e pela suscetibilidade do hospedeiro (Alexopoulos *et al.*, 1996)

## 1.2. Reino dos Fungos

Os cogumelos pertencem ao reino dos Fungos (Reino *Fungi*) que, como grupo, se distinguem nitidamente das plantas, animais e bactérias. Os fungos não apresentam as características mais importantes de plantas, como sejam, a sua capacidade de aproveitar diretamente a energia solar, assim como não possuem clorofila. Assim, os fungos estão dependentes de outros organismos para a sua alimentação, absorvendo os nutrientes do material orgânico no qual residem (Oei, 2006).

Os fungos reproduzem-se sexuada e/ou assexuadamente por gemiparidade ou por formação de vários esporos. Em função do tipo de reprodução, assim como outras características tais como as suas microestruturas especializadas de acordo com o modo de vida, enzimas produzidas, entre outras, os fungos classificam-se em quatro divisões fundamentais: *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota* e *Deuteromycota* (Bononi *et al.*, 1999).

De acordo com Alexopoulos *et al.* (1996), a espécie *Pleurotus ostreatus* pode ser classificada, do ponto de vista taxonómico, como pertencente ao **Reino:** *Fungi*; **Subreino:** *Fungi Superior*; **Divisão:** *Basidiomycota*; **Classe:** *Himenomycetes*; **Ordem:** *Agaricales*; **Família:** *Tricholomataceae*; **Gênero:** *Pleurotus*; **Espécie:** *ostreatus* (Tabela 1). Apresentam, assim, um processo de reprodução sexuada que envolve a produção de basidiósporos, contidos num basídio, nos quais o núcleo sofre meiose.

Tabela 1 - Classificação taxonómica do cogumelo *Pleurotus ostreatus* (fonte: Alexopoulos *et al.*, 2006)

<b>Reino</b> <i>Fungi</i>
<b>Subreino</b> <i>Fungi Superior</i>
<b>Divisão</b> <i>Basidiomycota</i>
<b>Subdivisão</b> <i>Basidiomycotina</i>
<b>Classe</b> <i>Himenomycetes</i>
<b>Ordem</b> <i>Agaricales</i>
<b>Família</b> <i>Tricholomataceae</i>
<b>Gênero</b> <i>Pleurotus</i>
<b>Espécie</b> <i>ostreatus</i>

Na Figura 2, encontram-se representadas as lâminas radiais existentes na face interior do chapéu, que contém hifas especializadas chamadas *basídios*, que originam esporos sexuais - os *basidiósporos*. O conjunto dos basídios forma, assim, uma estrutura reprodutora complexa denominada basidiocarpo (Trabulsi, 1991).

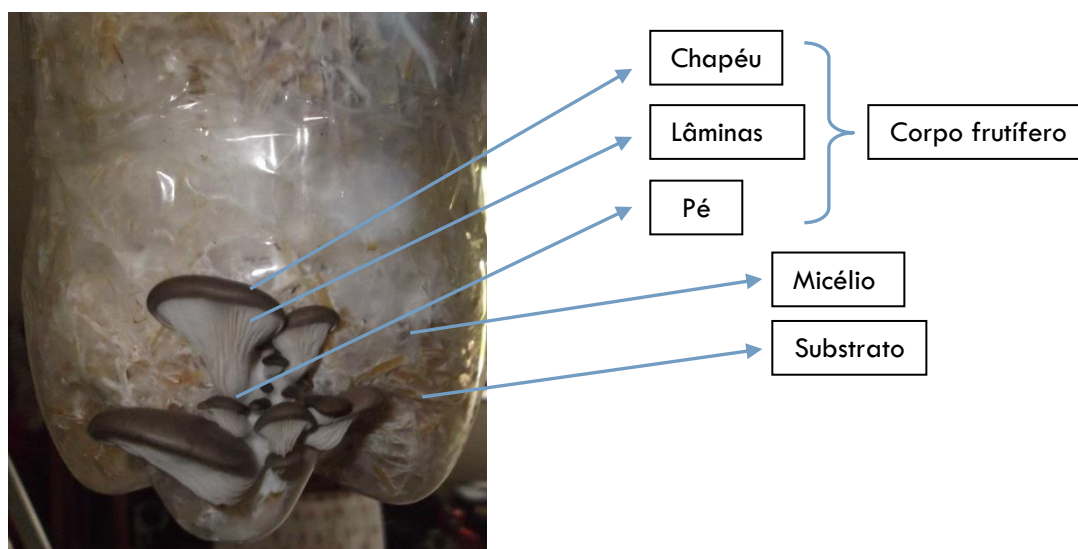


Figura 2 - Estrutura de um *Basidiomycota* (esquema e foto do autor, 2015)

Os esporos, ao caírem no solo, quando maduros, germinam formando hifas que darão origem aos micélios primários. Quando se encontram duas hifas compatíveis juntam-se, célula a célula, e dão origem a micélios secundários, sendo estas as estruturas que irão produzir novos cogumelos (Trabulsi, 1991).

Ao grupo dos *Basidiomycota*, pertencem os fungos da podridão branca, com grande importância para o ecossistema devido à sua capacidade para degradar substratos lignocelulósicos (Silveira, 1996). Durante o metabolismo estes fungos secretam enzimas que contribuem para a mineralização de compostos orgânicos presentes no substrato para a posterior assimilação de carbono, azoto, enxofre e outros nutrientes necessários para o seu crescimento (Donini *et al.*, 2005). Tal fato deve-se à capacidade desses fungos em produzir complexos enzimáticos, como as celulasas, celobiases, hemicelulasas, ligninases, lacases, entre outras (Schmidt *et al.*, 2003).

### 1.3. Biologia dos cogumelos

Os cogumelos são a parte visível de certos fungos, o chamado “fruto”, que, como tal, possuem esporos necessários para se reproduzirem. Neste tipo de fungos a parte vegetativa é formada por uma rede de filamentos ramificados chamados hifas. As hifas iniciam-se como formações tubulares a partir de esporos, ramificando-se repetidamente. Constituem, assim, uma rede mais ou menos densa que forma o micélio (Carlile *et al.*, 2001)

Ao se encontram dois micélios sexualmente compatíveis, pode formar-se um micélio secundário, com a subsequente formação de corpos de frutificação (Oei, 2006). Pela sua aparência, esta é a parte mais conspícua do organismo mas, com efeito, trata-se apenas do corpo de frutificação, pois a maior parte do organismo vivo encontra-se no interior do solo, da madeira ou do substrato (Oei, 2006).

Na Figura 3. Apresenta-se, esquematicamente, o ciclo de vida dos cogumelos na Natureza.

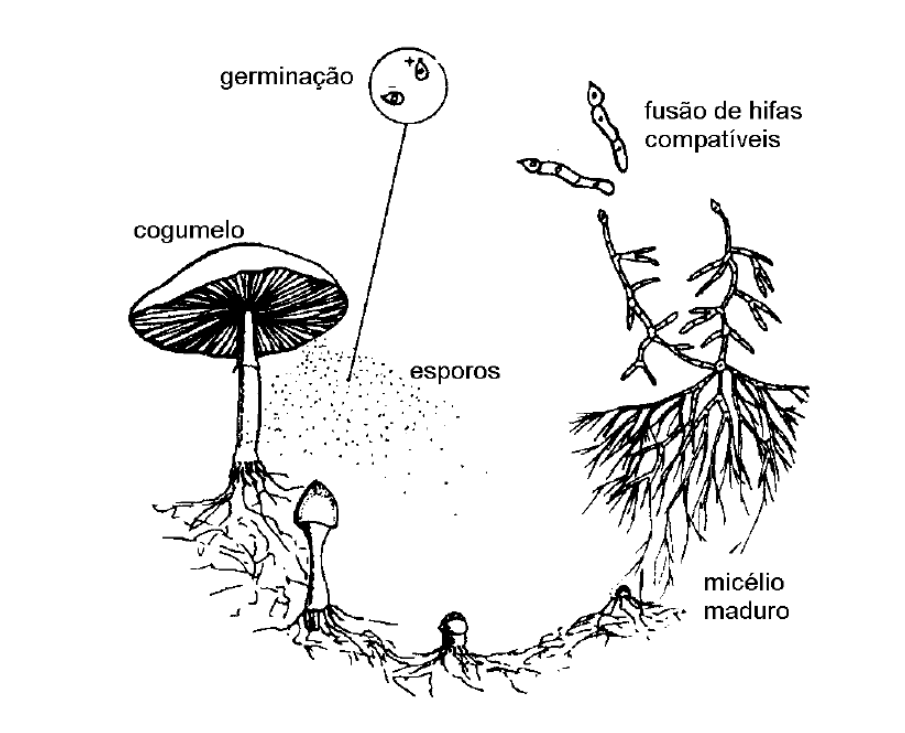


Figura 3 – Ciclo de vida de cogumelos na Natureza (Fonte: Oei, 2006)

A produção do cogumelo é o culminar do ciclo vital destas espécies. Ao cogumelo podemos, igualmente, denominar como fruto, corpo de frutificação, carpóforo, basidiocarpo ou basidioma. Com a maturação dos cogumelos, o *píleo* abre-se, as *lamelas* expõem-se e ocorre a disseminação dos esporos, sexuais e haploides. Os novos esporos ao germinarem dão origem às hifas que, por sua vez, formam o micélio primário. Da união de micélios primários compatíveis gera-se um micélio dicariótico ou micélio secundário, responsável pela formação dos primórdios, que darão origem aos cogumelos (Chang e Miles, 1984; Bononi e Trufen, 1986; Rajarathnam, 1987).

A espécie *Pleurotus ostreatus* apresenta um chapéu convexo a plano-convexo, de cor acinzentada ou esbranquiçada e com um diâmetro de 5 a 15 centímetros. Na parte inferior do chapéu, as lâminas encontram-se dispostas radialmente, sendo esbranquiçadas e bastante estreitos.

Uma das características desta espécie é a presença de pés laterais pilosos e muito curto face ao diâmetro do chapéu, dispondo-se em cachos. A parte comestível apresenta uma coloração esbranquiçada com aroma agradável e intenso (Barbado, 2003; Coelho, 2012).

Na Figura 4 podemos observar as principais partes constituintes dos cogumelos.

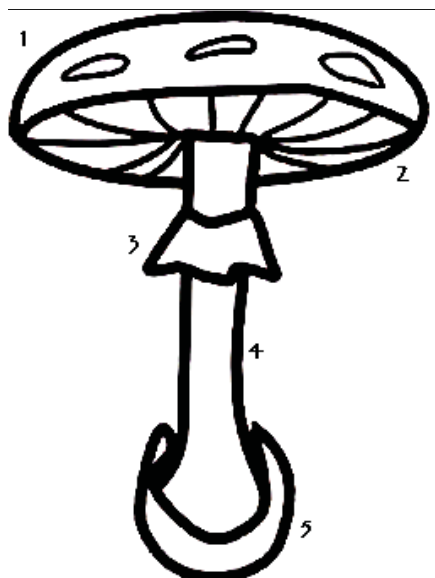


Figura 4 - Partes constituintes dos cogumelos (fonte:

<http://www.micobiotas.fc.ul.pt/CentroMicologia>-Fonte: Folha Viva n.º31,Abril/Junho 2005 pg.5).

1. Chapéu ou Píleo – O chapéu é a parte mais importante do cogumelo, pois na sua superfície inferior encontramos o himénio onde então os esporos reprodutores da espécie. 2. Parte inferior do chapéu – Com lâminas, tubos ou poros, agulhas ou dentes e pregas ou pseudolâminas. 3. Anel – O anel (quando existe), não é na realidade uma parte do pé, mas o resto de um véu que cobre a parte inferior do chapéu do cogumelo no estado jovem. O chapéu ao abrir-se rompe o véu que pode ficar aderente ao pé formando o anel. Nos *Cortinarius* este véu tem a forma de uma cortina que pode ser mais ou menos persistente e que pode deixar restos aderentes no pé. 4. Pé ou estipe – O pé do cogumelo pode adquirir as mais variadas formas. As características de maior interesse são a forma, a cor, a consistência, a superfície, os restos de véu ou cortina e a base do pé. 5. Volva – A volva (quando existe), não é na realidade uma parte do pé, mas o resto de um véu que cobre a parte inferior do chapéu do cogumelo no estado jovem. O chapéu ao abrir-se rompe o véu, podendo ou não, formar um anel, deixando uma volva que envolve a base do pé.

Estima-se que, a nível mundial o grupo dos *Basidiomycota* tenha em torno de 30.000 espécies, correspondendo a 37% do número descrito dos fungos verdadeiros (Kirk *et al.*, 2001).

Os fungos encontram-se na natureza quer em associações simbióticas com as plantas vasculares, quer em relações de mutualismo, quer, ainda, de parasitismo constituindo, neste caso, a grande maioria dos patogénicos de plantas. Porém, oferecem grandes potencialidades de aproveitamento biotecnológico, nomeadamente, a *Saccharomyces cerevisiae*, a *Neurospora crassa*, a *Aspergillus nidulans* (Bruns, 1991).

As partes dos cogumelos podem ser classificadas através da sua morfogénese (Figura 5).



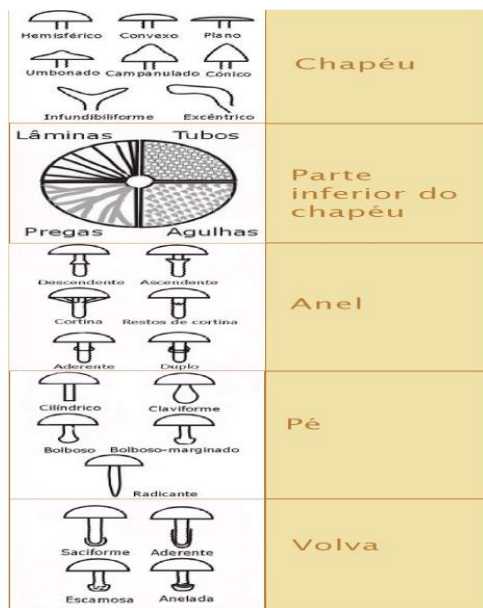


Figura 5 – Diferentes formas que podem assumir às várias partes dos cogumelos (fonte: <http://www.micobiotas.fc.ul.pt/CentroMicologia>-Fonte: Folha Viva n.º31,Abril/Jun)

São poucos os microrganismos capazes de degradar lenhina, considerada como fator determinante na digestibilidade de materiais fibrosos. No entanto, cogumelos do género *Pleurotus*, também denominados “fungos da podridão branca”, possuem esta característica, devido à presença de um complexo enzimático lignocelulolítico (Bonatti,2001). Esta espécie, bem como outras espécies de cogumelos, produzem enzimas lignilolíticas extracelulares como a lenhina peroxidase, a manganês peroxidase e a lacase, que estão envolvidas na degradação da lenhina, conferindo, aos cogumelos, a capacidade de crescerem em troncos de árvores vivas ou mortas (Martinez *et al.*,2001; Regina *et al.*,2003; Coelho,2012).

#### 1.4 Caracterização geral do cogumelo *Pleurotus ostreatus*

Os fungos dependem de outros organismos para a sua alimentação (Oei,2006). Pode-se distinguir entre três modos de viver:

- 1.Saprófitos (ou sapróbios): que decompõem matéria já morta;
- 2.Simbiontes: que existem numa convivência estreita, mutuamente benéfica, com outros organismos (particularmente árvores);
- 3.Parasitas: que vivem à custa de outros organismos (Oei,2006).

O modo de vivência não tem relação nenhuma com a comestibilidade do cogumelo, visto que nas três categorias supramencionadas se podem encontrar tanto cogumelos comestíveis como venenosos (Oei, 2006). Os pleurotos são englobados na categoria dos fungos saprófitos ou sapróbios.

Os fungos saprófitos necessitam de matéria orgânica para decompor. Na Natureza, estes desenvolvem-se em folhas caídas, excrementos de animais, ou em tocos de madeira morta. Alguns são

especializados na decomposição de pelos de mamíferos, enquanto outros decompõem penas de aves (Oei, 2006).

Os saprófitos decompõem as estruturas orgânicas, complexas, que restam de plantas e animais. No decorrer do processo natural de crescimento das plantas, estas absorvem nutrientes que necessitam e se encontram presentes no substrato. Na natureza os cogumelos pleurotos decompõem madeira morta. Portanto, podem ser cultivados num grande leque de materiais residuais que contém ligni-celulose (Oei, 2006).

Os cogumelos comestíveis fazem parte de duas grandes divisões: *Ascomycota* (*Agaricus*) e *Basidiomycota* (*Pleurotus*) (Bononi *et al.*, 1999). Apesar de Portugal e de outros países não apresentarem legislação específica que regule o comércio de cogumelos, é possível a comercialização de espécies cultivadas sem risco para a Saúde Pública e com interesse sob o ponto de vista alimentar, sendo o caso de algumas espécies, nomeadamente, o *Pleurotus ostreatus* (repolgas ou cogumelo ostra), o *Lentinula edodes* (shiitake), ambos com propriedades medicinais, o *Pleurotus eryngii* (setas de cardo), *Lepista nuda* (pé azul) e *Agaricus bisporus* (cogumelos de Paris) entre outros (Martins, 2004).

O nome pleuroto aplica-se a mais de 20 espécies diferentes de cogumelos, cada uma com as suas próprias características de cultivo, como sejam a amplitude de temperatura, a cor e a taxa de crescimento ótimas. Segundo os dados constantes no ANEXO I, constatamos que as únicas espécies de cogumelos atualmente cultivados em temperaturas próximas ou mesmo inferiores a 30°C são: pleurotos (*Pleurotus cystidiosus/abalonus/ostreatus* var. *florida*), *Volvariella volvacea*, *Agaricus bitorquis*, *Stropharia rugoso-annulata* e orelha-de-pau (*Auricularia polytricha*) (Oei, 2006).

O cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* encontra-se distribuído em todo o Mundo, sendo comumente designado por cogumelo ostra devido a sua forma característica. O seu cultivo à escala industrial tomou ênfase, principalmente, a partir da década de 70, do século passado, tornando-se um dos cogumelos comestíveis mais cultivados no mundo (Apati, 2004).

A cultura de cogumelos, vulgarmente designada por Micicultura, permite produzir cogumelos sapróbios durante todo o ano, em ambiente controlado, utilizando diferentes substratos (Ramos *et al.*, 2011). Os cogumelos comestíveis são muito apreciados não só pelo seu aroma, sabor e valor nutritivo, mas também pelo seu interesse medicinal, desempenhando, atualmente, um papel na dieta alimentar (Ramos *et al.*, 2011).

A produção de cogumelos por processos biotecnológicos, utilizando resíduos lenhocelulósicos, provenientes das indústrias agroalimentares e florestais, assume uma importância cada vez maior nos domínios da Tecnologia Alimentar e da Biotecnologia Ambiental (Ramos *et al.*, 2011).

Para elucidar o desenvolvimento dos métodos de cultivos e colheita nos últimos anos, apresentamos um esquema simplificativo segundo Stamets (2000), um dos gurus da Micologia do nosso século.

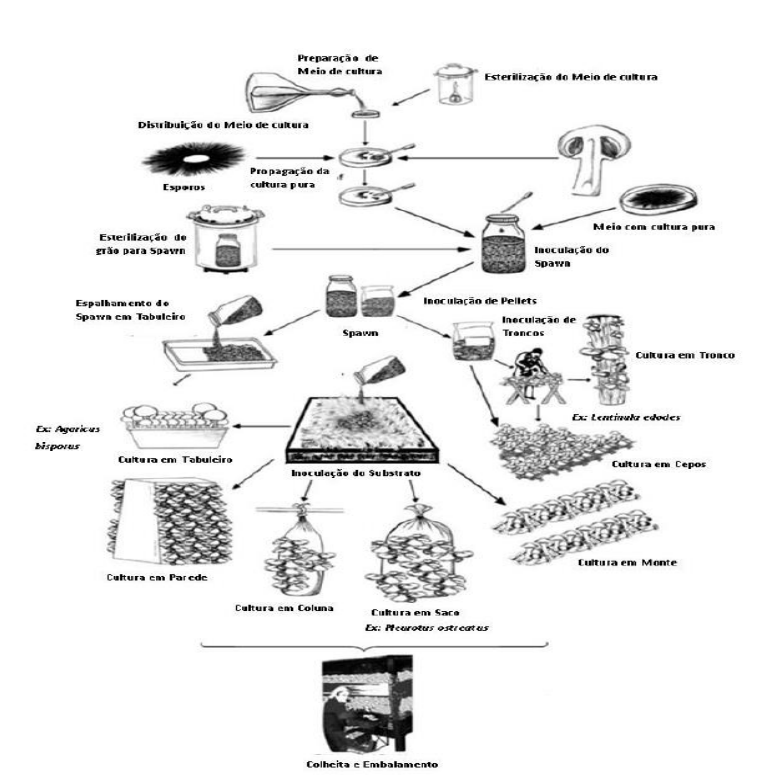


Figura 6 - Metodologia de cultivo e colheita de cogumelos – (Fonte:Stamets,2000)

Consoante o substrato da cultura utilizada, os cogumelos apresentam diferenças no que respeita à forma, tamanho, coloração, capacidade produtiva e composição. A otimização da produção de *Pleurotus* passa, assim, pela formulação correta dos substratos de crescimento e a efetiva biodegradação dos resíduos lenhocelulósicos (Ramos *et al.*,2011).

#### 1.4.1. Ciclo de vida do cogumelo *Pleurotus ostreatus*

Os cogumelos constituem os corpos de frutificação de muitos fungos. São organismos que, contrariamente ao que acontece com plantas superiores, não possuem clorofila. Reproduzem-se quer seja por via sexuada quer por via mo assexuadamente. A sua estrutura vegetativa, do tipo filamentoso (hifas), forma um conjunto denominado micélio. O micélio origina-se a partir da germinação de um esporo. Ao germinar, o esporo emite um pequeno tubo que se alarga na extremidade, local onde ocorre uma divisão celular, formando-se um filamento, que se ramifica em várias direções (Batista,2013).

Na reprodução sexuada juntam-se duas hifas do mesmo micélio ou de micélios diferentes, formando-se um novo micélio. Quando as condições nutricionais e ambientais forem favoráveis, formar-se-ão frutificações a partir do micélio, dando origem à formação de vários esporos fechando-se, assim, o ciclo de vida deste organismo (Batista,2013).

Os fungos propagam-se através da produção de milhões e milhões de esporos. Quando um esporo se estabelece num ambiente apropriado pode germinar e ramificar-se formando um micélio. Quando se encontram dois micélios sexualmente compatíveis, podem fundir-se formando um micélio secundário, que é capaz de formar corpos de frutificação (Oei,2006).

Na prática do cultivo de cogumelos comestíveis não se utilizam esporos. O seu tamanho reduzido faz com que sejam difíceis de manusear e as suas características genéticas podem diferir do seu progenitor. Para além disso, os esporos de cogumelos precisam de algum tempo para germinar, enquanto outros fungos, como os bolores verdes, germinam e disseminam-se muito mais rapidamente (Oei, 2006).

O cogumelo “desejado” deve ser capaz de colonizar o substrato antes de outros fungos ou bactérias. Para realizar tal processo, como indica a Figura 7, o micélio pré-cultivado do cogumelo (isento de quaisquer contaminantes) é inoculado num substrato estéril. Referimo-nos a este material com o termo inóculo ou spawn. Segundo Oei (2006) a inóculo é o micélio que se desenvolve num substrato utilizado como material de plantio na cultura de cogumelo. A utilização do inóculo, dá uma vantagem de desenvolvimento ao cogumelo cultivado em comparação com outros fungos (Oei, 2006).

Neste ciclo de vida dos cogumelos, Oei (2006) refere que o micélio é constituído por uma rede de hifas (células individuais do micélio) que formam o corpo vegetativo do fungo. Sendo que os cogumelos (na literatura designam-se “cabeças de agulha” ou “cabeça de alfinete” ao termo para descrever um cogumelo muito jovem, quando o chapéu tem o tamanho duma cabeça de agulha ou alfinete) são os corpos de frutificação do micélio.

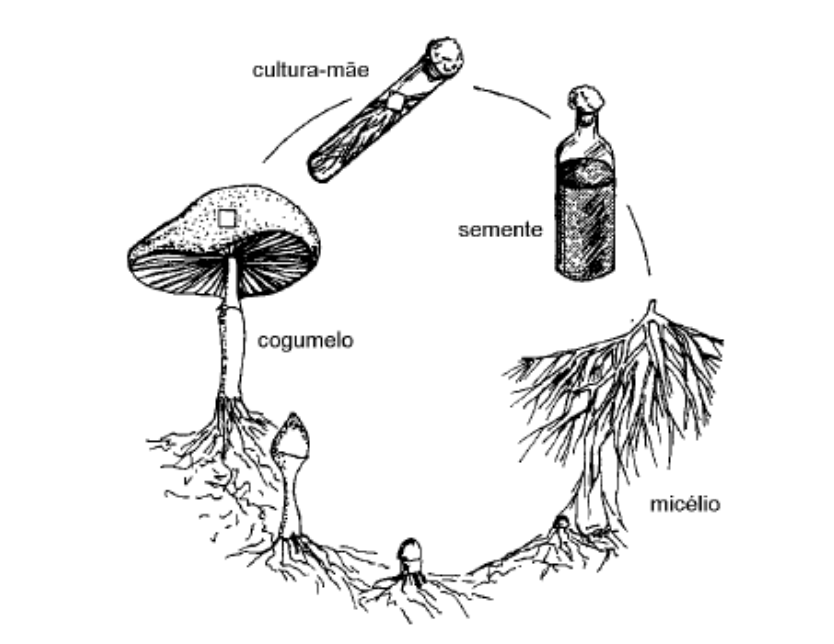


Figura 7 - Ciclo de vida dos cogumelos a semente. Isolam-se as culturas de tecido dum cogumelo e propagam-se num substrato apropriado. Quando plenamente colonizado, este substrato é usado no cultivo de cogumelos (Fonte: Oei, 2006).

O *Pleurotus* apresenta um ciclo de produção bastante curto, uma vez que necessita menos de 30 dias desde o início do crescimento vegetativo até à primeira colheita, podendo atingir, em situações favoráveis, três ciclos de produção. Esta espécie, para além de possuir um ciclo produtivo reduzido requer uma tecnologia de produção menos complexa, sendo estas características determinantes na viabilidade técnica e económica de um cultivo à escala industrial (Apati, 2004; Mandeel *et al.*, 2005; Coelho, 2012).

### 1.4.2. Composição nutricional do cogumelo *Pleurotus ostreatus*

Deve-se à sua qualidade sensorial e ao seu valor nutricional, a crescente popularidade, na Europa, dos cogumelos comestíveis *Pleurotus ostreatus*, Tal como a grande maioria dos cogumelos comestíveis, o *Pleurotus ostreatus* caracteriza-se pelo seu baixo valor calórico (360 kcal kg<sup>-1</sup> parte comestível) (Jaworska e Bernas, 2009).

Relativamente ao valor nutricional, o *Pleurotus ostreatus* contém fibra, hidratos de carbono, vitaminas (B1, B2, B12, C, D e E), teores elevados de minerais, tais como: potássio, fósforo, manganês, ferro, cálcio e baixos teores de lípidos. Contudo, a composição nutricional pode variar em função do substrato utilizado e da idade ou maturidade dos corpos de frutificação (Carvalho *et al.*, 2012).

Produzem, ainda, uma série de metabolitos de interesse farmacêutico e medicinal, como antioxidantes, anti tumorais, imune estimulantes e antimicrobianos (Elmastas *et al.*, Kitzberger *et al.*, 2007; Moradali *et al.*, Israuliides *et al.*, 2008).

Para verificarmos a importância nutricional do cogumelo *Pleurotus ostreatus*, comparamos, na Tabela 2 (em %), os valores nutricionais das três espécies principais de cogumelos cultivadas a nível mundial, segundo Manzit *et al* (2001) e Cheng (2008).

Tabela 2 - Análise centesimal dos cogumelos: *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* e *Lentinus edodes* (Manzi *et al.*, 2001, Cheung, 2008) <sup>a</sup>%N X 4,35, <sup>b</sup> Calculados por diferença (%Matéria Seca - %Proteína - %Cinzas - %Gordura).

	<i>Agaricus bisporus</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Lentinus edodes</i>
Matéria seca	6-9	8-12	5-18
Cinzas	10-13	6-9	3-9
Proteína <sup>a</sup>	22-33	11-35	13-24
Gordura	2-6	2-6	1-8
Hidratos de carbono <sup>b</sup>	46-61	47-82	67-78

Um dos principais atributos nutricionais dos cogumelos comestíveis é o seu elevado conteúdo proteico (25%), o qual é equiparado ao do leite (25,2%) e do feijão (24,2%), sendo mais elevado que o reportado para o arroz (7,3%) e para o trigo (13,2%). Porém, a qualidade proteica de um alimento é, sobretudo, determinado pelo seu valor biológico (Astudillo, 2007).

De acordo com alguns autores, entre os quais Reis *et al.*, (2012<sup>a</sup>), a espécie *Pleurotus ostreatus* é considerada uma boa fonte de proteínas. Alguns investigadores alegam que a composição em aminoácidos destes cogumelos é comparável com a das proteínas animais.

Ainda no género *Pleurotus*, Wang *et al.*, (2001) verificaram a presença considerável de aminoácidos essenciais, 12,67g/100g, de matéria seca, de um total de 34,75 g/100 g de aminoácidos totais. O cogumelo do género *Pleurotus* apresenta, segundo vários autores, todos os aminoácidos essenciais (Wang *et al.*, 2001; Furlani e Gody, 2005). Entre os aminoácidos essenciais mais abundantes

encontrados na espécie *Pleurotus ostreatus* destacam-se a leucina, a teonina e o triptofano (Chinnange Intarapichet, 2009).

Os *Pleurotus ostreatus* possuem uma grande relevância comercial quer pela sua utilização gastronómica, quer pelas suas propriedades nutricionais e medicinais, quer, ainda, pelo facto de crescerem e frutificarem numa grande variedade de substratos (Germ *et al.*, 2008; Fu *et al.*, 1997). De fato, são muito apreciados devido ao seu sabor, e à alta qualidade da sua proteína, hidratos de carbono, minerais, tais como cálcio, fósforo e ferro, e vitaminas (tiamina, riboflavina e niacina) (Sturion e Oetterer, 1995). La Guardia *et al.*, 2005, analisaram quatro diferentes tipos de cogumelos *Pleurotus* em relação à composição de lípidos, açúcares, azoto, água, vitaminas, cinzas e valor energético. Os resultados mostram que os cogumelos *Pleurotus* se adequam a vários tipos de dietas por apresentarem baixo conteúdo calórico, alto valor gastronómico, vitaminas e sais minerais.

Com exceção da água, os hidratos de carbono são, geralmente, os componentes predominantes dos cogumelos, sobretudo nos corpos de frutificação. O teor de hidratos de carbono nos cogumelos comestíveis varia, em termos de em matéria seca, de 35 a 70% (Cheung, 2008).

Os cogumelos comestíveis possuem um elevado teor de oligossacáridos e baixos teores de açúcares solúveis totais. De entre os monossacáridos, destacam-se a glicose, o manitol e a trelose, bem como os seus derivados (açúcares, álcoois) (Ricardo, 2013).

De acordo com um estudo comparativo de várias espécies o manitol, que participa no crescimento do volume e firmeza dos corpos de frutificação, é o álcool mais abundante nos cogumelos comestíveis cultivados, predominando na espécie *Agaricus bisporus* e na espécie *Lentinula edodes*. No que concerne aos dissacarídeos, a trelose é, por sua vez, a mais abundante (Barros *et al.*, 2007a; Barros *et al.*, 2007b; Barros *et al.*, 2007c; Barros *et al.*, 2008a; Barros *et al.*, 2008b; Heleno *et al.*, 2009; Kalac, 2013), sendo mais abundante na espécie *Pleurotus ostreatus* e na espécie *Pleurotus eryngii* (Reis *et al.*, 2012a).

Na atualidade os consumidores procuram, cada vez mais, fontes naturais de vitaminas, assim como produtos de boa qualidade (Furlany e Godoy, 2007). Os cogumelos, na sua quase totalidade, são uma boa fonte de niacina, ácido ascórbico (vitamina C), tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), folatos e biotina (Çaglarirmak, 2007; Pauli, 2010).

Esta espécie é uma fonte de antioxidantes para a produção de medicamentos e complementos nutricionais, ricas em teores de ácido ascórbico (vitamina C) são muito altos, variando de 36 a 58 mg/100 g de matéria seca, como também, no tratamento das diabetes, da hipoglicémia e do cancro (Romero *et al.*, 2000).

A espécie, as áreas de cultivo, o tempo de crescimento do corpo de frutificação e a distância de fontes poluidoras são fatores que determinam a quantidade de minerais presentes nos cogumelos, sendo também altamente influenciados pelas condições de cultivo, como o clima e o substrato (Gençcelep *et al.*, 2009; Pauli, 2010).

Dentro de algumas cidades existem algumas espécies de cogumelos a frutificarem em áreas poluídas, designados como bioacumuladores destes minerais, nomeadamente do cádmio e chumbo, considerados como contaminantes inorgânicos (Kalac, 2009).

Segundo Pauli *et al* (2010), a composição em minerais e em contaminantes inorgânicos, revelaram que os cogumelos possuem grande quantidade de minerais, principalmente potássio (elemento em maior concentração), fósforo e magnésio. Todas as espécies estudadas apresentam, porém, teores baixos de sódio, pelo que, se poderiam classificar como alimento que “não contém sódio”, tornando-se fundamentais para a alimentação de pessoas com hipertensão arterial, problema relativamente comum a pessoas idosas.

Os cogumelos captam todos os minerais que se encontram no substrato onde são cultivados que, geralmente contém uma quantidade relativamente alta de fósforo e potássio e uma menor quantidade de cálcio (Ricardo,2013).

Sendo assim, os cogumelos comestíveis cultivados, uma boa fonte de minerais, contendo na sua composição o potássio, o fósforo, o magnésio, o cálcio e o sódio, inclusive o *Pleurotus ostreatus*. Além disso, podem conter micronutrientes, nomeadamente, o cobre, o ferro, o manganês e o zinco (Chang e Miles,2004; Cheung,2008).

O tipo de substrato, as condições ambientais e a espécie de fungo utilizada no cultivo influenciam expressivamente na composição química dos cogumelos, podendo ocorrer variações, principalmente, em relação a minerais e à qualidade proteica deles (Crisan e Sands, 1978; Andrade, 2007).

Contudo, a adaptação de linhagens de *Pleurotus* spp. a novos resíduos requer mais do que conhecimentos inerentes ao processo de cultivo, pois é fundamental sobretudo quando se trata de novas formulações com resíduos madeireiros e agroindustriais, ter-se conhecimentos quer sobre a composição química do substrato, quer do cogumelo, onde determinado tipo de estudo está sendo introduzido (Sales-Campos *et al.*,2009).

Segundo Sales-Campos *et al* (2009), e na sequência de estudos determinados por vários autores, são evidentes as diferenças entre a composição mineral em vários tipos de substratos no género *Pleurotus* spp. (Tabela 3).

**Tabela 3.** Estudo comparativo da composição mineral com outros autores – Valores convertidos em g.kg<sup>-1</sup> (para macro) e g.kg<sup>-1</sup> (para micronutrientes) (fonte: Sales-Campos et al,2009)

Fonte	Fungo	Substrato	Macronutrientes			Micronutrientes					
			K	P	Mg	Ca	Na	Fe	Zn	Mn	Cu
Akindahunsi, Oyetayo (2006)	<i>P. tuber-regium estipe/pileo</i>	-	3,1-3,3	0,10-0,15	0,02	2,9-1,2	80-70	-	20-50	-	3-2
Bernás et al. (2006)	<i>P. ostreatus</i>	-	27,22-51,00	6,18-13,39	1,28-1,90	0,89-1,50	440-1440	90-150	30 a 120	-	-
Chang, Lau e Cho (1981)	<i>P. sajor-caju</i>	palha de trigo, resíduo algodoeiro	23,2-24	5,87-8,40	1,37-1,88	0,19-0,36	1720-2380	50-115	-	-	-
Chang, Lau e Cho (1981)	<i>P. ostreatus</i>	-	37,93	13,48	-	0,33	8370,0	152	-	-	-
Gbolagade et al. (2006)	<i>P. florida</i>	madeira em decomposição	0,146	0,137	0,017	0,05	3	0,7	5	7	0,5
Moda, Horii e Spoto (2005)	<i>P. sajor-caju</i>	bagaco de cana lavado e suplementado	43,2	19,7	4,6	0,102	215,0	163	192	21	14
Sapata (2005)	<i>P. ostreatus</i>	palha trigo + diferentes resíduos agrícolas	11,7-32,5	-	1,14-3,56	0,48-8,8	18 600	97-283	67-125	8,6-18	14-42
Silva, Costa e Clemente (2002)	<i>P. pulmonarius</i>	diversos resíduos agrícolas	5,79-23,709	-	0,71-2,593	0,034-0,684	-	75-154	-	-	-
Sturion e Ranzani (2000)	<i>Pleurotus spp.</i>	diferentes resíduos agrícolas	9,9-29,8	3,8-11,2	0,7-1,8	0,1-5,2	-	27-561	26-163	3-32	7 a 19
Sturion e Ranzani (2000)	<i>Pleurotus spp.</i>	-	32,8	14	1,9	-	105,14	136,28	127,47	12,42	24,42
Vetter (1990)	<i>P. ostreatus silvestre</i>	diferentes substratos	19,93-27,12	3,79-7,13	1,20-1,59	1,40-1,65	-	99-252	70,3-91,2	9,7-23,6	5,7-11
Vetter (1994)	<i>P. ostreatus pileo/estipe</i>	palha de trigo	39,83-27,22	11,98-6,18	1,90-1,24	0,89-1,06	544-438	151-137	80,2-48,9	7,06-11,3	21,9-16,2
Wang, Sakoda e Suzuki (2001)	<i>P. ostreatus pileo/estipe</i>	resíduo cevada + trigo	21,71	16,48	1,82	-	219	71	137	16	25
Zhang e Fadel (2002)	<i>P. ostreatus</i>	palha de arroz, palha de trigo sem suplemento	35,5	9,7	-	-	-	-	-	-	-
Strmiskova, Strmiska e Dubravicky (1992)	<i>P. ostreatus</i>	-	39,9	13,39	1,84	0,14	195	90,3	67,6	7,38	15,1



### 1.4.3. Propriedades funcionais do cogumelo *Pleurotus ostreatus*

Os cogumelos têm sido utilizados desde a mais remota antiguidade, sendo apreciados não só enquanto alimento, mas também para outros fins, dos quais se destacam a sua utilização como agente terapêutico (Azevedo *et al.*, 2012).

A Comissão Europeia propõe que se defina alimento funcional como alimentos que têm uma ação saudável em funções do organismo, para além do efeito nutricional, sendo esta ação relevante para a melhoria do estado de saúde ou do bem-estar, tal como para a redução do risco de doença. É um alimento que faz parte do padrão de alimentos normal. Não é um comprimido, nem uma cápsula, nem nenhuma forma de suplemento alimentar (European Commission, 2010).

Atualmente os cogumelos são muito valorizados, quer devido ao seu valor gastronómico, quer devido às suas propriedades nutricionais (Ferreira, Barros, & Abreu, 2009; Ferreira, *et al.*, 2010). Em comparação com os produtos de origem vegetal, os cogumelos são mais ricos em proteínas, contendo a presença de todos os aminoácidos essenciais e têm teores equilibrados de vitaminas e minerais, além de terem um conteúdo de água extremamente elevado (Furlani & Godoy, 2007; Rai & Paul 2007; Grangeia *et al.*, 2011; Kalač, 2009; Ouzouni, *et al.*, 2009; Heleno *et al.*, 2011).

Ao nível nutricional, podemos colocar entre os vegetais e as proteínas animais. Embora a sua composição seja cerca de 90% de água, o seu peso seco pode atingir o valor de 40% de proteínas. Apresenta aminoácidos essenciais, vitaminas hidrossolúveis, minerais e um reduzido conteúdo lipídico. É de mencionar que na sua composição estão também presentes fibras e hidratos de carbono (Leal *et al.*, 2013).

Constituem, ainda, uma fonte considerável de fósforo, potássio, zinco e cobre, assim como um elevado teor de fibras alimentares (Grangeia *et al.*, 2011; Heleno *et al.*, 2011; Kalač, 2009; Ouzouni *et al.*, 2009; Furlani & Godoy, 2007; Tao *et al.*, 2006). Por outro lado, são pobres em calorias, lípidos e sais, são isentos de açúcar, amido e colesterol, o que os torna um suplemento nutricional e dietético ideal (Rai & Paul, 2007).

Para além das características organoléticas e da polivalência gastronómica, os cogumelos são também considerados um alimento atrativo do ponto de vista nutricional (Ricardo, 2013).

Segundo Yilmaz *et al.* (2006), os *Pleurotus spp.* possuem propriedades medicinais, como imunomodulatórias, anticancerígenas, anti-inflamatórias, ações antivirais, e ainda, efeitos positivos sobre hipoglicemia e funções cardíacas.

Segundo Manzi e Pizzoferrato (2000),  $\beta$ -glucanos (polissacáridos) são os principais responsáveis pelas propriedades terapêuticas dos cogumelos. Karacsonyi e Kuniak (1994) isolaram  $\beta$ -D glucanos de *Pleurotus ostreatus* e confirmaram a eficiência dos mesmos no controlo de certas infeções bacterianas.

Alguns basidiomicetos são conhecidos por sua atividade hipocolesterolémica, especialmente na tradicional medicina oriental (Bonnati, 2001). Os fungos do género *Pleurotus*, produzem lovastatina agente farmacológico para diminuir o colesterol, utilizando-se no controlo de doenças cardiovasculares (Bobek *et al.*, 1991; Gunde-Cimerman e Cimerman, 1995).

As glucanas são compostos bioativos promotores da saúde, pois possuem propriedades hipocolesterolêmica, anticoagulante, antitumogênica, anti citotóxica e anti mutagênica. Estimulam, ainda, o sistema imunitário, modulando a imunidade humoral e celular, exercendo assim um efeito benéfico no combate a infecções (Mantovani *et al.*, 2008; Assis *et al.*, 2011).

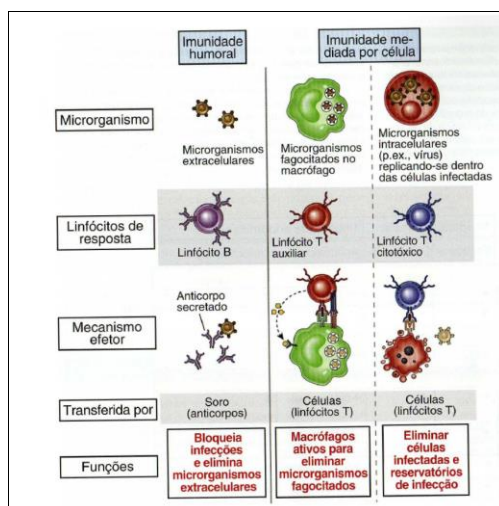


Figura 8. Ação de Imunidade Humoral e Celular (Adaptado: Color Atlas of Hematology, 1992)

O efeito imunológico pode ser dividido em humoral e celular (fonte: <http://mundobiomedico.com.br/2014/01/16/imunidade-adquirida/>):

A imunidade humoral está ligada diretamente à ativação dos linfócitos B, interferida pela ação dos anticorpos contra microrganismos extracelulares e as suas toxinas. Essa resposta imunológica pode desencadear diversos mecanismos efetores <sup>(1)</sup>, facilitando a fagocitose ou, por outro lado, libertando mediadores inflamatórios ativadores dos mastócitos.

A imunidade celular é mediada por linfócitos T contra micro-organismos intracelulares, destruindo e originando rompimento das células infetadas.

Os cogumelos possuem um teor considerável de ergosterol que, por ação de raios ultravioletas, é transformado em vitamina D2 quando são submetidos a um processo de foto irradiação. Os cogumelos comestíveis foto irradiados constituem assim, uma boa fonte desta vitamina (D2) tão importante para a absorção de cálcio, sobretudo do fosfato de cálcio, elementar para o bom desenvolvimento dos ossos e dos dentes (Jasinghe, 2005).

O *Pleurotus ostreatus*, bem como outras espécies de cogumelos comestíveis, constituem uma ótima fonte de antioxidantes naturais, apresentando na sua constituição compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonóides), seguido por tocoferóis (principalmente, o  $\alpha$ -tocoferol), o ácido ascórbico e carotenóides, sobretudo o  $\beta$ -caroteno. Estes compostos foram quantificados em várias espécies de cogumelos,

<sup>1</sup> Mecanismo de resposta de um órgão a um estímulo.

principalmente, da Finlândia, Índia, Coreia, Polónia, Taiwan e de Portugal (Ferreira *et al.*, 2009; Barros *et al.*, 2009).

O cogumelo *Pleurotus ostreatus* é citado como umas das espécies comestíveis com uma elevada atividade antioxidante, estando os compostos antioxidantes presentes na sua composição na origem das suas propriedades antioxidantes (Jayakumar *et al.*, 2009).

Do ponto de vista energético, estes fungos não têm importância relevante. A título de exemplo 100 g de cogumelos frescos possuem um valor energético igual a 30 kcal, pelo que podem ser utilizados em dietas com baixa ingestão de calorias (Coli *et al.*, 1988).

De uma maneira geral, o termo oxidante é usado para classificar moléculas que estão presentes em baixas quantidades relativamente ao substrato que é oxidável, e que reagem rapidamente de maneira a suprimir ou a prevenir a sua oxidação (Magalhães, 2009).

Os antioxidantes protegem as células do “stress oxidativo”, por meio da sequestração dos radicais livres (Clarke, 2009). Estudos epidemiológicos têm demonstrado uma relação inversa entre o consumo de frutas e vegetais, ricos em antioxidantes, e a ocorrência de doenças como o cancro, Alzheimer e arteriosclerose (Willet, 2001).

Um estudo realizado aos extratos metanólicos de algumas espécies de cogumelos comestíveis comercializados em Portugal, tais como, *Agaricus bisporus* (branco), *Agaricus bisporus* (castanho), *P.ostreatus*, *P.eryngii* e *Lentinula edodes*, revelam que as mesmas possuem um efeito bloqueador nos radicais DP PH• (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) inibindo a peroxidação lipídica, ao que se associa um fonte poder redutor (Reis *et al.*, 2012b).

#### **1.4.4. Fases de cultivo do cogumelo *Pleurotus ostreatus***

Segundo Sapata *et al.* (2010), são 4 fases principais fases de cultivo dos cogumelos *Pleurotus ostreatus* em salas de em ambiente controlado: (1) Fase de colonização micelial ou incubação; (2) Fase de frutificação ou produção; (3) Fase de repouso e (4) Fase de desinfeção da sala.

##### **1.4.4.1. Fase de colonização micelial ou incubação**

Durante a fase de colonização micelial, o micélio desenvolve-se à custa do substrato. O período da colonização micelial varia de espécie para espécie, dependendo, ainda do tamanho do saco, da quantidade do inóculo, da estirpe usada e da temperatura e humidade, assim como da iluminação (Oei, 2006).

No que concerne à temperatura e humidade Alananbeh *et al.*(2014) referem que os sacos e/ou garrafas de plástico reutilizado inoculados devem ser colocados em salas de cultivo a uma temperatura de 20-25°C e a uma humidade relativa de 80-95%. Deve proporcionar-se uma falta de luz durante as 3 primeiras semanas até os substratos estejam completamente colonizados pelo micélio.

Quando inoculados os sacos e/ou garrafas de plástico, dever-se-ão colocar-se em prateleiras dentro dos recintos de incubação. Dependendo da estirpe e da temperatura, o micélio colonizará o substrato dentro de duas ou três semanas e, de seguida, iniciar-se-á a formação de pequenos corpos de frutificação (Figura 11) (Oei, 2006).



Figura 9 - Fase de incubação ou de colonização micelial (foto do autor, 2015)

A fase de incubação caracteriza-se por uma atividade biológica intensa uma vez que o micélio degrada o substrato e absorve os seus nutrientes. Este processo é bem visível quando se forma uma massa branca e compacta. A incubação tem uma duração de 15 a 20 dias, sendo aconselhável a manutenção da temperatura entre 25°C a 28°C, na ausência de luz (Bononi *et al.*, 1995; Apati, 2004).

#### **1.4.4.2. Fase de frutificação ou produção**

O micélio, após ter colonizado o substrato, está em condições de produzir corpos de frutificação. O micélio e a qualidade dos corpos de frutificação dependem do ambiente (Oei, 2006).

A fase da incubação termina com a colonização total do substrato, período ao qual dever-se-ão induzir as condições necessárias para se iniciar a fase de frutificação, como sejam uma humidade relativa de 95% e um período de luminosidade de 12 horas por dia. Os sacos e/ou garrafas de plástico devem ser perfurados (Bononi *et al.*, 1995; Apati, 2004).

Segundo Oei (2006), a indução da formação de corpos de frutificação depende de fatores como: a mudança de temperatura; a elevada humidade; a deficiência em nutriente; a concentração de CO<sub>2</sub>; a luz e os traumas físicos. Porém, a maioria das mudanças que estimulam a frutificação, tem um efeito negativo no desenvolvimento vegetativo do micélio, pelo que tais mudanças só devem ser realizadas

apenas quando o micélio tiver colonizado completamente o substrato. Na realidade, são as condições menos favoráveis para o desenvolvimento vegetativo que estimulam o micélio a frutificar (Oei, 2006).

O conteúdo de celulose no substrato é um dos fatores mais importantes para o desenvolvimento dos corpos de frutificação (Bonatti, 2001).

A frutificação de alguns cogumelos pleurotos (por exemplo estirpes de *Pleurotus ostreatus*) verifica-se quando, após o desenvolvimento micelial, sofrem um choque de frio (uma diferença entre 5°C a 10°C). Para além disso, dever-se-á reduzir também a concentração de CO<sub>2</sub>. Embora o desenvolvimento micelial possa realizar-se na escuridão, a luz é essencial para se conseguir a frutificação (Oei, 2006).

Segundo Baptista, (2001) a frutificação processa-se em fluxos a um ritmo semanal

A colheita deve proceder-se somente quando as margens do píleo estiverem planas (Bononi et al., 1995; Apati, 2004).



Figura 10 - Fase de frutificação (foto do autor, 2015).

#### 1.4.4.3. Fase de repouso

Após o 1.ª fluxo (colheita) de produção dos cogumelos a produção deve ficar em repouso por um período de cerca de 6-8 dias, período este fundamental para que se inicie um novo período de frutificação, independentemente da espécie (Ramos *et al.*, 2011). Porém GERA-Gestão Rural Ativa (2015) mencionam um período de repouso de cerca de 12 dias, quer após a 1ª frutificação, 2ª frutificação ou 3ª frutificação (fonte: <http://www.gera.com.pt>).

Ainda, e segundo a empresa Quadrante Natural (2015), os fluxos de frutificação podem ser de 2 a 3, com intervalo de cerca de 7 a 10 dias.

No período de repouso deve-se aumentar a humidade relativa entre fluxos (fonte: <http://www.quadrante-natural.pt/Produtos/PP%20380.pdf>).

#### 1.4.4.4. Fase de desinfeção da sala

Na indústria alimentar, o processo de higienização consiste num conjunto de práticas que tem como objetivo devolver ao ambiente de processamento (superfícies das instalações, dos equipamentos e dos utensílios) a boa condição higiénica inicial (tal como se encontravam no início da laboração) (MTSA-GQ- apontamentos de Profª Lurdes Dapkevicius, 2014).

Segundo Lurdes Dapkevicius (2014), as etapas do processo de higienização na produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus* num bom plano de higienização, consistem nas etapas de Limpeza (L) e da Limpeza + Desinfeção (L+D), enquadradas da seguinte forma, segundo indica a Tabela 4.

Tabela 4 - Etapas de Limpeza (L) + Limpeza + Desinfeção (L+D) nas salas de cultivo de cogumelo *Pleurotus ostreatus* (fonte: Manual de Higienização. Indústria Alimentar. Apontamentos MTSA-GQ Profª Lurdes Dapkevicius, 2014)

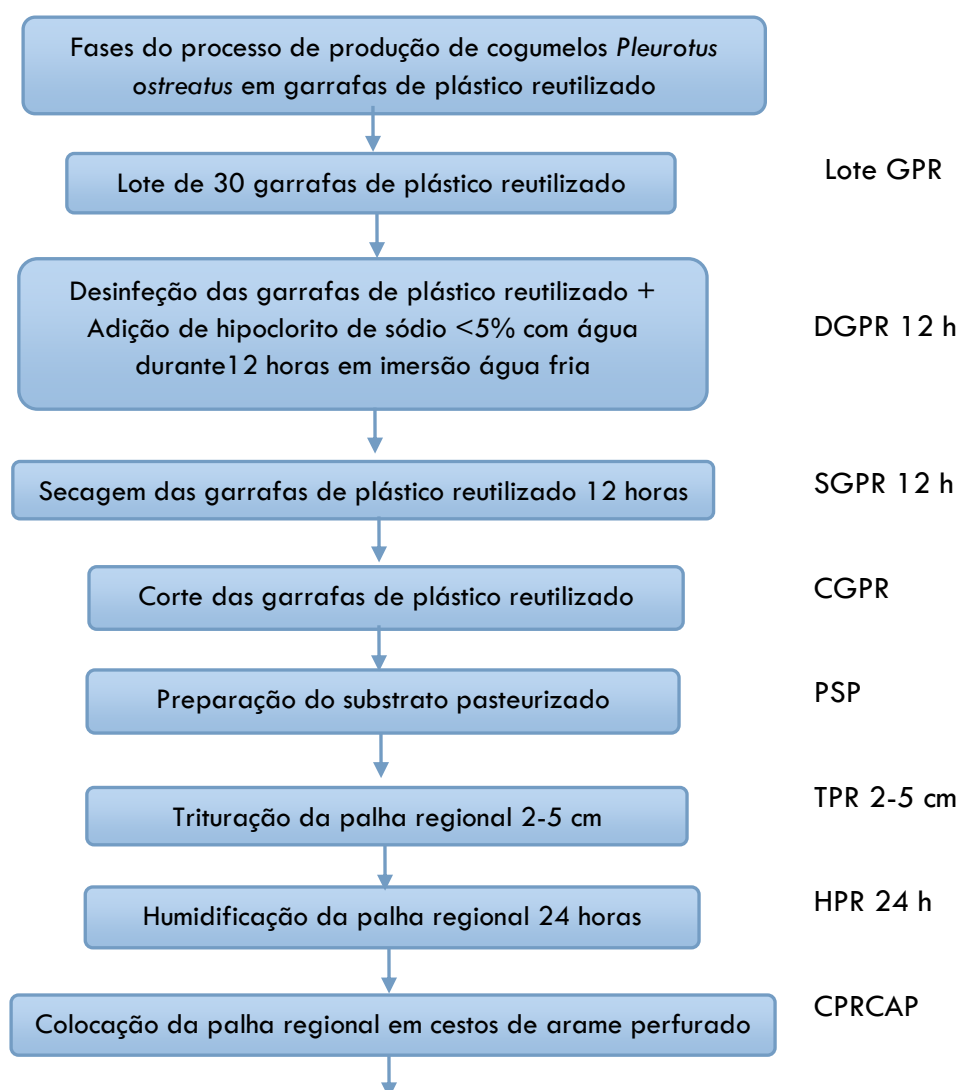
<b>Etapa</b>	<b>Ação</b>
Enxaguamento	Remoção das sujidades maiores com aplicação de água
Limpeza	Remoção de sujidades pela aplicação de detergente
Enxaguamento	Remoção do detergente com água corrente
Desinfeção (L+D)	Destruição de bactérias pela aplicação de desinfetante ou calor
Enxaguamento (L+D)	Remoção de desinfetante com água corrente
Secagem	Remoção do excesso de água

Segundo GERA-Gestão Rural Ativa (2015), o período de desinfeção prolongar-se por cerca de 4 dias a uma temperatura de 20°C. Devem utilizar-se materiais resistentes à corrosão uma vez que irão estar expostas a humidades relativas muito elevadas. Do mesmo modo, o chão deve ser em material

lavável e resistente à corrosão, de modo a facilitar a limpeza e a desinfeção (fonte: <http://www.gera.com.pt>).

#### 1.4.5. Fluxograma de etapas de cultivo do cogumelo *Pleurotus ostreatus* em garrafas de plástico reutilizado

Baseado no Método Kissan-Kerala (2015) (Índia) criamos, para a nossa realidade dos Açores, ilha Terceira, o seguinte fluxograma de produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus*, em garrafas de plástico reutilizado, pois pensamos que se trata de um método simples que pode otimizar alguns substratos existentes na produção de cogumelos (todas as fases foram efetuadas na prática pelo autor, dado possuir alguma experiência prática de produção em sacos pasteurizados com palha de trigo <http://www.kissankerala.net/kissan/kissancontents/alied.jsp#mush>)



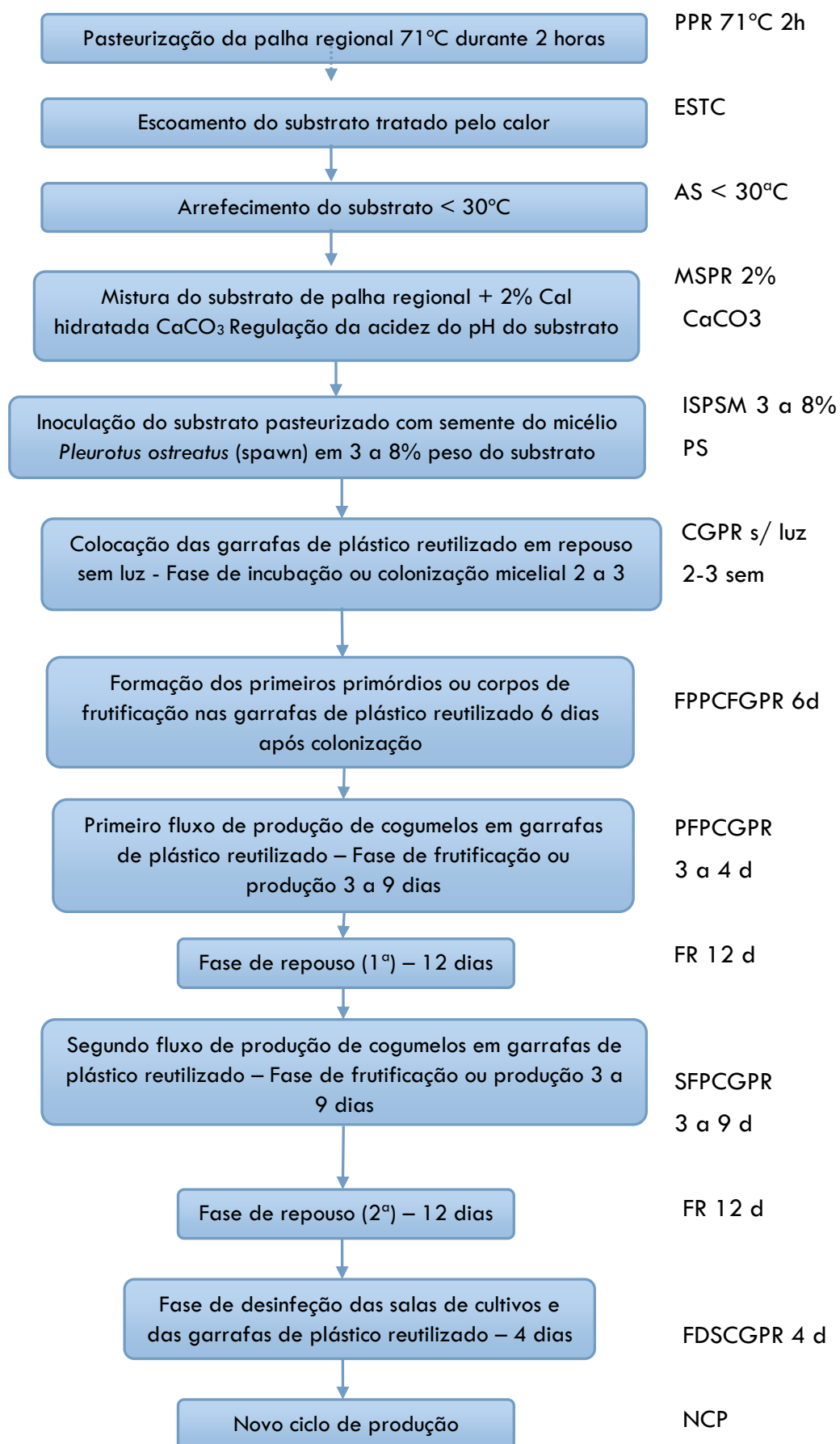


Figura 11 - Fluxograma das fases do processo de produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus* em garrafas de plástico reutilizado (feito pelo autor, 2015)



#### 1.4.6. Importância da reciclagem e/ou reutilização de resíduos orgânicos na produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus*

Anualmente produzem-se milhões de toneladas de resíduos agroindustriais anualmente e, embora a grande maioria destes poluentes sejam biodegradáveis, torna-se necessário um tempo mínimo para que seja mineralizado. A maior parte desses resíduos são direcionados à ração animal ou simplesmente depositados no solo. Entretanto, novas soluções podem ser dadas a esses resíduos, a fim de agregar o seu valor, uma alternativa seria na bioconversão utilizando microrganismos, principalmente os fungos (Fan *et al.*, 2013; Villas-Boas *et al.*, 2002).

A Comissão Europeia está a propor uma série de medidas destinadas a acelerar a transição da Europa para uma economia mais circular. Através de uma maior eficiência em termos de recursos e da transformação dos resíduos num recurso, este novo modelo traz vantagens a nível de competitividade, crescimento e emprego, assim como para o ambiente (Comissão Europeia, 2015).

Porém, para se alcançar a transição para uma economia mais circular (Figura 12) obrigará ao estreitamento da ligação entre a redução dos resíduos e a eficiência dos recursos, a aprender a apreciar os resíduos como um recurso e à aplicação dos ensinamentos do mundo natural, onde nada é desperdiçado. Acima de tudo, significará um afastamento da atual abordagem através da qual extraímos matérias-primas finitas do solo, utilizamo-las uma única vez para fazer um produto e eliminamo-las enterrando-as de novo no subsolo (Comissão Europeia, 2015).

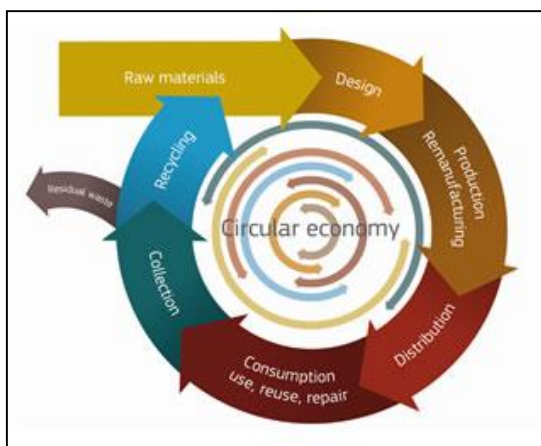


Figura 12-Rumo a uma economia circular  
(fonte: [http://ec.europa.eu/environment/news/efe/articles/2014/08/article\\_20140806\\_01\\_pt.htm](http://ec.europa.eu/environment/news/efe/articles/2014/08/article_20140806_01_pt.htm)).

A mudança de paradigma passará um afastamento das nossas economias de «extrair, fabricar, consumir e deitar fora» e por uma aproximação de um modelo baseado na «reutilização, reparação, renovação e reciclagem». As propostas da Comissão para a concretização desta mudança são amplas e incluem novas metas e indicadores em matéria de resíduos para acompanhar a eficiência dos recursos,

políticas destinadas a aumentar a reciclagem e a tornar os ciclos de vida dos produtos mais sustentáveis e iniciativas para criar empregos verdes e apoiar os eco empresários (Comissão Europeia, 2015).

Baseadas na estratégia «Europa 2020» consubstanciada em objetivos de crescimento inteligente, sustentável e inclusivo, as novas propostas acompanham uma revisão das atuais metas da União Europeia em matéria de resíduos. As propostas salientam a forma como a política de resíduos tem sido um potente motor da reciclagem e da reutilização, mas que é necessário fazer mais para fechar este ciclo. Ajudaria incentivar as mudanças no início dos ciclos de vida dos produtos e das cadeias de valor, onde há uma margem significativa para a criação de emprego. Também é necessário um maior incentivo para as concessões que favoreçam uma baixa utilização de recursos, uma maior duração da vida dos produtos e uma reparação e reciclagem fáceis (Comissão Europeia, 2015).

Chama-se substrato o material no qual o micélio dos cogumelos se desenvolve. Resíduos agrícolas, como sejam lascas de madeira/serradura, bagaço de cana-de-açúcar e diferentes tipos de palha, podem ser usados como ingredientes principais do substrato para a cultura de pleurotos (Oei, 2006; Ramos *et al.*, 2011).

Atualmente, o sistema de cultura em ambiente controlado, permite obter cogumelos ao longo de todo o ano, com ciclos de produção mais curtos, maior produtividade e melhor qualidade do produto, sem exigir instalações muito específicas e dispendiosas permitindo, ainda, reciclar determinados resíduos agrícolas e agroindustriais, como por exemplo, palhas de cereais e resíduos hortofrutícolas, assim como o estrume de bovino, de equino, de suíno, de aves e de outros animais domésticos (Zhang *et al.*, 2002; Bonatti, 2004; Chang e Miles, 2004; Ramos *et al.*, 2004a). Serraduras, papel, cartão, estilhas de madeira, constituem, entre outros, materiais que podem ser utilizados com vantagens e a baixos custos, como base para o composto (Batista, 1999).

Para além do aproveitamento de substratos no cultivo de cogumelos Bonatti (2001) refere à sua importância na dieta de ruminantes, após o ciclo cultural, uma vez que na sequência da conversão da fração fibrosa dos resíduos lignocelulósicos em hidratos de carbono, o que os torna mais facilmente assimiláveis por ruminantes e ricos em proteínas e minerais.

De igual modo, o composto residual pode ser utilizado como fertilizante quer fornecendo elementos nutritivos para as plantas, quer como corretivo orgânico melhorando as suas propriedades físicas, melhorando a estrutura dos solos reduzindo, diminuindo a perda de água por infiltração, aumentando a capacidade de retenção de humidade, melhorando a densidade aparente e a difusão da atmosfera do solo também (Chang, 1987; Cherover e Fox, 2001; Maher *et al.*, 2000; Maff (2004), citado por Ribas, 2009; Adebayo e Martínez-Carrera, 2015)

O cultivo de cogumelos comestíveis é um processo biotecnológico utilizado para a reciclagem de resíduos orgânicos lenho-celulósicos, e é o único processo atual que combina a produção de alimentos ricos em proteínas com a redução da poluição ambiental (Mandeel *et al.*, 2005). A maioria destes fungos, denominados “fungos de podridão branca”, possuem enzimas como celulase, lignase, celobiase, lacase e hemicelulose que fazem com que estes fungos degradem uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos (Rajaratnam *et al.*, 1992; Bononi e Trufenn, 1996; Erchlerová *et al.*, 2002; Bonatti *et al.*, 2004).

A escolha do substrato a ser utilizado no cultivo de cogumelos é um fator de primordial importância, pois se sabe que existem resíduos que promovem maiores produções em função da sua composição química. E consequentemente os valores nutricionais dos cogumelos dependem do tipo de substrato utilizado e condições de cultivo (Curvetto *et al.*, 2002, Tisdale *et al.*, 2006; Dias, 2010)

No esquema abaixo, pode observar-se a função desempenhada pelas enzimas degradadoras de materiais lignocelulósicos representado na Figura 15

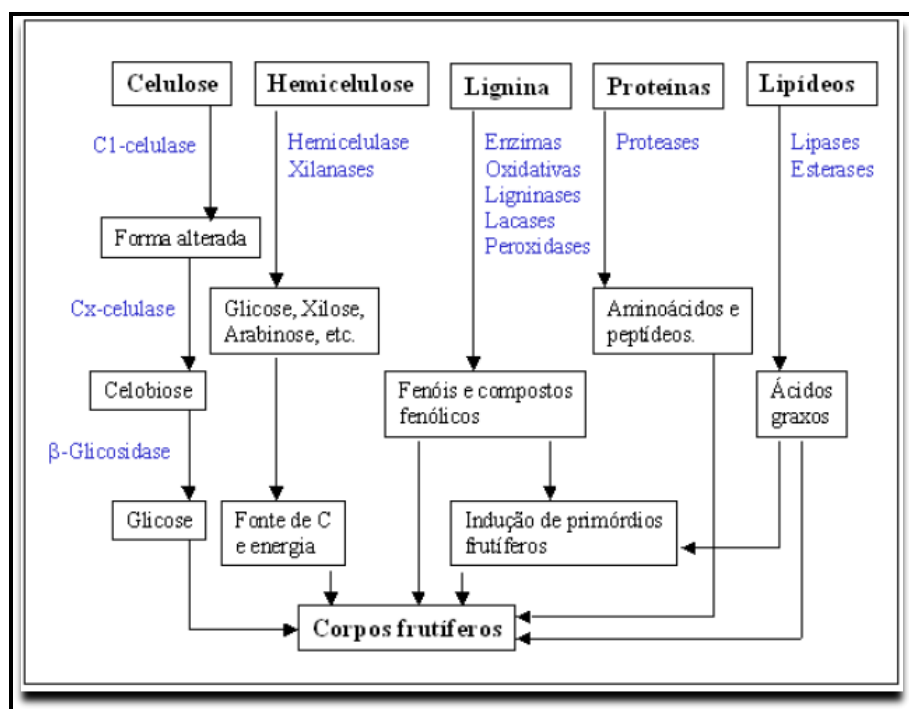


Figura 13 - Esquema da função desempenhada pelas enzimas degradadoras de materiais lignocelulósicos através da morfogênese dos basidiomicetos (fonte: Rajarathnam *et al.*, 1992).

Presentemente o cultivo de *Pleurotus* é realizado segundo várias perspectivas de comércio. Assim, é frequente o seu cultivo para a produção de corpos frutíferos com fins alimentares (Silveira, 2003; Ragunathan e Swaminathan, 2003; Bonatti *et al.*, 2004; Shashirekha Rajarathnam, Bano, 2005; Viena, Paz, Giovanni, 2007; Holtz *et al.*, 2009; Rampinelli *et al.*, 2010), para a extração de enzimas como celulasas e xilanases (Ghosh *et al.*, 1998; Tsiklauri *et al.*, 1999; Alexandrino *et al.*, 2007), para a extração de princípios terapêuticos (Lari *et al.*, 2006; Ajith e Janardhanan, 2007; Moradali *et al.*, 2007; Wollf *et al.*, 2008; Selegean *et al.*, 2009; Tong *et al.*, 2009; Dalonso *et al.*, 2010; De Barba, 2010; Zhang *et al.*, 2004a; Zhang *et al.*, 2004b) e para a bioconversão de resíduos lignocelulósicos de um modo geral (Thomas *et al.*, 1998; Oliveira *et al.*, 2007; Sales-Campos *et al.*, 2010).

#### 1.4.6.1. Preparação do substrato

Chama-se substrato o material no qual o micélio dos cogumelos se desenvolve. Resíduos agrícolas, como sejam lascas de madeira/serradura, bagaço de cana-de-açúcar e diferentes tipos de palha, podem ser usados como ingredientes principais do substrato para a cultura de pleurotos (Oei,2006).

Na preparação dos substratos é fundamental a existência, para além da matéria-prima, trituradores e equipamento para a pasteurização.

A mistura do composto poder ser feita manualmente, com o recurso a uma forquilha, ou, para explorações de maiores dimensões, com maquinaria apropriada.

#### **1.4.6.2. Os substratos mais utilizados**

Na preparação dos substratos recorre-se, comumente, a resíduos agrícolas e agroindustriais, como por exemplo, palhas de cereais e resíduos hortofrutícolas, assim como o estrume de bovino, de equino, de suíno, de aves e de outros animais domésticos (Zhang et al., 2002; Bonatti, 2004; Chang e Miles,2004; Ramos et al., 2004a). Serraduras, papel, cartão, estilhas de madeira, constituem, entre outros, materiais que podem ser utilizados com vantagens e a baixos custos, como base para o composto (Batista,1999).

Na cultura *Pleurotus ostreatus* pode recorrer-se à utilização de vários tipos de substrato desde que apresentem celulose na sua constituição. Deste modo, palhas (cereais, fenos), serraduras, papel, cartão, estilhas de madeira, constituem, entre outros, materiais que podem ser utilizados com vantagens e a baixos custos, como base para o composto (Batista,1999).

Vários resíduos lignocelulósicos são descritos como substrato para o cultivo de *Pleurotus spp.*, tais como palha de cereais, bagaço de cana-de-açúcar, serragens, casca de frutas, folhas de bananeira, restos de papel, resíduos cítricos, polpa de café, entre outros. Na maioria dos cultivos, estes substratos são misturados a outras fontes nutricionais, com destaque para os farelos e ureia; desta forma, aumentam o tempo de preparação e os custos de produção (Li et al.,2001; Eira, 2003; Moda et al.,2005).

Cogumelos ostra (*Pleurotus spp.*) podem produzir corpos de frutificação em palhas de arroz (*Oryza sativa*), trigo (*Triticum vulgare*), rami (*Eleusine coracana*), bazra (*Pennisetum typhoides*), sorgo (*Sorghum vulgare*), milho (*Zea mays*) (Bano et al., 1987; Goswami et al., 1987), madeiras de álamo (*Populus robusta*), carvalho (*Quercus leucotrichopora*), noz-peito-cavalo (*Aesculus indica*), *Acacia spp.* (Pant et al., 1987), pseudocaule de bananeira triturada (Singh e Tandon, 1987), algodão, talam, conchas, ervilha e álamo pó-de-serra (Philippoussis et al.,2001; Zervakis et al., 2001).

##### **1.4.6.2.1. Palha de trigo**

A palha de trigo é o substrato tradicional utilizado no cultivo de *Pleurotus* na Europa, com produtividade tais que, muitas vezes, dispensam, a elaboração do composto (Figueiró, 2009).

A composição química da palha de trigo é, em termos médios, 33 a 42% de celulose, 25 a 32% de hemicelulose, 16 a 23% de lignina e menos de 1% de extrativos (Kerstetter & Lyons, 2001).

O trigo é uma gramínea do gênero *Triticum*, que contém 30 tipos geneticamente diferenciados, entre os quais apenas três são produzidos comercialmente, o *aestivum vulgare*, o *turgidum durum* e o *compactum*. O *durum* é utilizado na produção de macarrão e outras massas, o *compactum* é um trigo de baixo teor de glúten, produzido em pequena proporção, utilizado para fabricar biscoitos suaves, enquanto o *aestivum* é responsável por mais de quatro quintos da produção mundial, por ser o adequado à panificação (ABITRIGO, 2009).

Zadrazil (1980) reportou que fungos do gênero *Pleurotus* tem alto poder de colonização saprofítica e podem colonizar a palha de trigo esterilizada, pasteurizada (60-90°C) e fermentada (55°C, 120 dias). Rangaswami *et al.* (1975) demonstraram que este fungo também pode colonizar resíduos de plantas não esterilizados.

Justo *et al.*, 1998, observaram em três culturas mexicanas de *Pleurotus ostreatus*, cultivados em palha de trigo, a seguinte composição mineral, em peso seco:  $7,66 \pm 0,23$  a  $8,79 \pm 0,25$  g/100g de cinzas;  $0,79 \pm 0,01$  a  $1,85 \pm 0,07$  g/100g de cálcio e  $0,49 \pm 0,01$  a  $0,95 \pm 0,05$  g/100g de fósforo.

O cultivo de *Pleurotus* pode estar diretamente ligado à reciclagem econômica de resíduos agroindustriais como a palha de trigo, de arroz, resíduos de algodão, de madeira, de bagaço de cana-de-açúcar, de serrarias e de muitos outros (Chang e Miles, 1984).

#### **1.4.6.2.2. Folhas de bananeira (*Musa spp.*)**

Tradicionalmente, em termos culturais, as folhas de bananeira (*Musa spp.*) são colocadas sobre o solo como cobertura morta, contribuindo para o controle da erosão e restituindo, ao solo, parte de nutrientes.

Uma das formas alternativas de utilização das folhas de bananeira poderá passar pela produção de corpos frutíferos (cogumelos) do gênero *Pleurotus*, aproveitando a facilidade que esse gênero possui em degradar materiais lignocelulósicos (Rajaratnam *et al.*, 1992). Para além das folhas, podem utilizar-se, ainda os pseudo-caules como substrato no cultivo de *P. ostreatus* (Bonatti, 2004; Motato *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2000; Sturion, 1994).

Embora não haja trabalhos que relatem a comparação de crescimento micelial de *P. ostreatus* em diferentes cultivares de bananeira, sugere-se que a velocidade de crescimento micelial, bem como a produção de cogumelos, seja influenciada pelas suas composições estruturais, minerais e nutricionais distintas (Carvalho *et al.*, 2013).

Segundo Sturion (1994) os resíduos da bananeira representam uma proporção equivalente a 40% do peso do fruto e as folhas representam 15 % da planta completa. De acordo com a mesma autora, a palha das folhas de bananeira apresenta relação C/N de 25:1, teor de proteína de 9,38%, teor de fibra bruta de 32,3%, com índices de lignina de 15,37%, de celulose de 34,13% e de hemicelulose de 20,1%.

Kiehl (1985) relata-nos teores de 88,99% de matéria orgânica, 2,58% de azoto e 0,19% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, para este resíduo. As folhas da bananeira apresentam valores de 70,29 % de FDN (fibras), 20,52 % de PB (proteína bruta) e 7,01 % de lignina (Valadares Filho *et al.*, 2010).

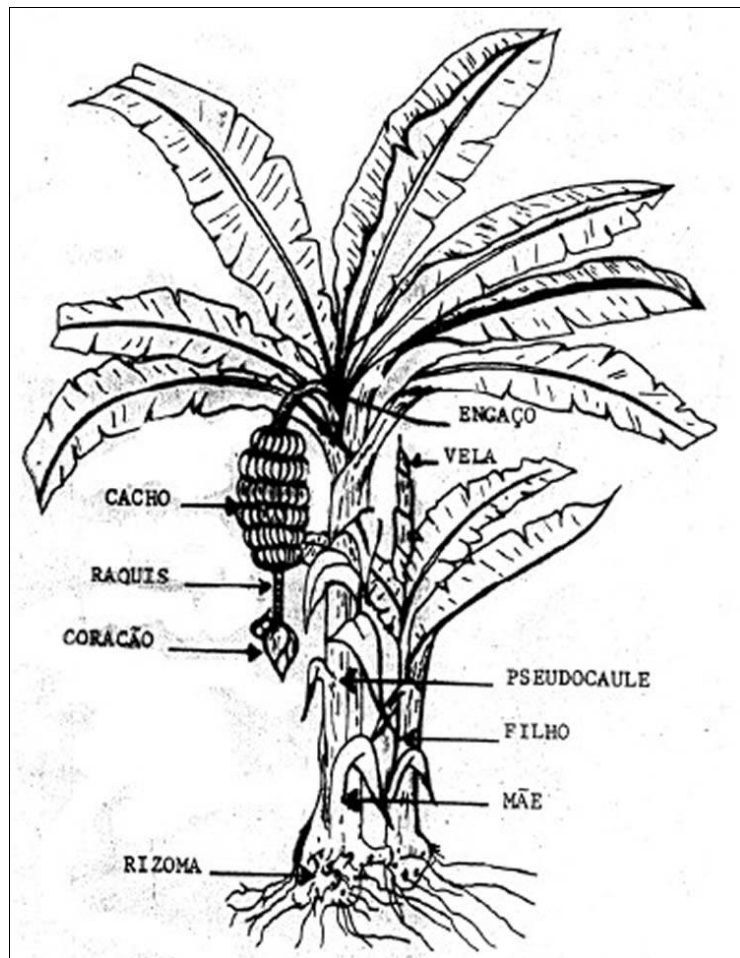


Figura 18 - A planta da bananeira (*Musa* spp.) (fonte: <https://blogbananeira.wordpress.com/about/>)

#### 1.4.6.2.3. Folhas de abacateiro (*Persea americana* Mill.)

O abacateiro (*Persea americana* Mill.) (figura 19) pertence à família Lauraceae, gênero *Persea*, o qual compreende três variedades botânicas, em uma única espécie: *Persea americana* var. *americana*; *Persea americana* var. *guatemalensis* e *Persea americana* var. *drymifolia*, Barwick (2004). De acordo com Williams (1976), estas correspondem, respetivamente, às cultivares hortícolas conhecidas como antilhana, guatemalense e mexicana (Oliveira *et al.*, 2010).

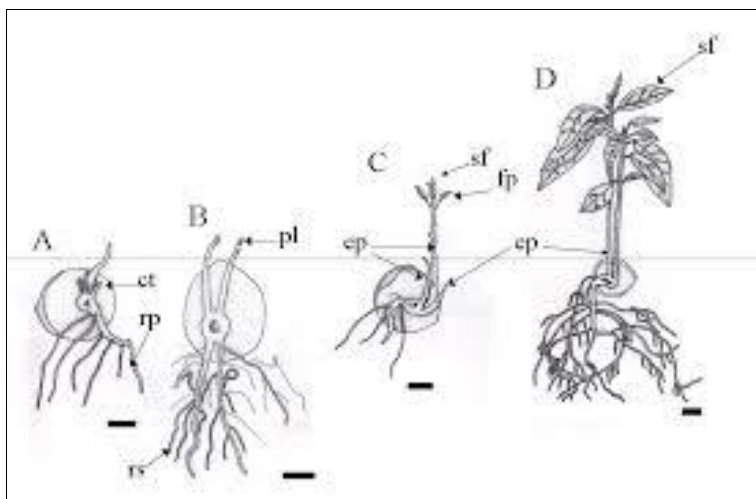


Figura 19 – O desenvolvimento e a caracterização morfológica da planta do abacateiro (*Persea americana* Mill) (Oliveira et al.,2010) - Emergência de plântulas de abacate A, B, C e D evidenciando a presença de mais de um caulículo por semente: Raiz primária (rp); cotilédones (ct); raízes secundárias (rs); plúmula (pl); epicótilo (ep); folha primária (fp); segundo par de folhas (sf); Emergência hipógea (linha tracejada). (Barra = 2 cm) (fonte: Adaptado de Oliveira et al.,2010).

Foi provavelmente no século XIX, época em que esta espécie mereceu a atenção dos horticultores europeus, que a mesma foi introduzida nos Açores como árvore de fruto, mas foi essencialmente após a revolução de Abril de 1974, com o regresso de portugueses que viviam na ex-colónia africana de Moçambique que a sua plantação sofreu um incremento, com vista à produção de fruta. A sua utilização como planta medicinal no Arquipélago açoriano é anterior a 1974, e provavelmente anterior ao século XIX. Na ilha de São Miguel, infusões de folhas de abacateiro são utilizadas no tratamento das infeções urinárias das vacas (quando estas urinam sangue). Curiosamente, na cidade de Ilhéus, Baía, Brasil, efusões de folhas de abacateiro eram e são utilizadas no tratamento de problemas da uretra (Moreira et al., 2002).

#### 1.4.6.3. Método de tratamento

O objetivo do tratamento pelo calor (pasteurização) é, essencialmente, a destruição dos microrganismos patogénicos. A maioria dos substratos recebe um tratamento pelo calor antes da inoculação, constituindo uma medida importante para o controlo de pragas e de doenças (Oei, 2006).

Segundo Oei (2006), existem três métodos de tratamento pelo calor na produção de pleurotos:

- ✱ Pasteurização por imersão em água quente
- ✱ Pasteurização com uso de vapor
- ✱ Esterilização

Segundo este autor existem vantagens e desvantagens de diferentes tratamentos pelo calor (tabela 5), desta forma podemos adaptar a melhor forma de tratamento pelo calor no cultivo de cogumelos.

Tabela 5 – Vantagens e desvantagens de diferentes tratamentos pelo calor (Fonte: Oei, 2006)

Tratamento pelo calor	Comentário	Equipamento
Substrato fresco pasteurizado por imersão em água quente	Método simples  Praticável para vários tipos de resíduos agrícolas, como sejam resíduos de polpa de café, palha e serradura  O risco de contaminação é reduzido, visto que os hidratos de carbono facilmente solúveis são removidos pelo processo de imersão	Um fogo de lenha ou energia solar são de uso fácil
Substrato fresco pasteurizado com uso de vapor	Método adequado para processar grandes quantidades de substrato  Uso de resíduos agrícolas como sejam palha, carolos de maçarocas de milho, cascas de sementes de algodão  O risco de contaminação é mais alto do que no caso de substratos imersos ou esterilizados	É necessário dispor duma caldeira de vapor e dum recinto de pasteurização  Tambor de petróleo sobre um queimador de combustível
Substrato fresco “esterilizado”	Método adequado para sacos com serradura	Método simples: tambores de petróleo sobre queimadores de combustível Método dispendioso: autoclave

#### 1.4.6.3.1. Pasteurização por imersão em água quente

A pasteurização por imersão a quente é um método simples, praticável para vários tipos de resíduos – palha de trigo, folhas de bananeira e folhas de abacateiro e, acima de tudo, o risco de contaminação é reduzido visto que os hidratos de carbono facilmente solúveis são removidos no processo de imersão.

É um método simples, pois requer, apenas, água quente, recipientes e fontes de aquecimentos (Oei, 2006).

Por norma, o substrato é colocado dentro de cilindros de malha de arame que se posam dentro dos bidões que, posteriormente, serão cheios de água até que fique o cilindro totalmente submerso. A água será aquecida até uma temperatura um pouco superior a 70.°C., pois deve manter-se a esta



temperatura durante, pelo menos, 15 minutos. Porém é aconselhável que esta operação se processa por um período mais seguro, de 30-60 minutos (Oei, 2006).

Uma imersão a temperaturas inferiores a 70 °C e durante períodos inferiores a 15 minutos é, manifestamente, insuficiente para destruir todos os patogénicos. O tamanho dos recipientes onde se fazem as pasteurizações, depende da escala operativa. Um recipiente de 240 litros pode conter, aproximadamente, 90 kg de substrato de palha molhada. O mesmo recipiente pode ser usado 2-3 vezes por dia, visto que o tempo real de imersão é, apenas, de 30 minutos a uma hora (Oei, 2006).

#### 1.4.7. Método de Kissan - Kerala (Índia)

Kissan Kerala é um sistema de informação agrícola, multimodal, que fornece informações dinâmicas e úteis, assim como serviços de consultoria à comunidade agrícola em Kerala, estado no sul da Índia na costa de Malabar. O projeto foi concebido, projetado, desenvolvido e implementado pelo Instituto Indiano de Tecnologia da Informação e Management-Kerala.

Ao sucesso de implementação deste programa não pode estar alheia a pessoa de **Muhammad Yunus**, laureado com o Nobel da Paz, em 2006. **Muhammad Yunus**, conhecido na Índia como “o banqueiro dos pobres”, fundou um banco (Grameen Bank), em que o governo de Bangladesh é o principal acionista, com o objetivo primário é oferece ativamente microcrédito para milhões de famílias.<sup>2</sup>

Decorrente do surgimento de facilidades de crédito muitas das famílias de Kerala, impulsionadas essencialmente pelas mulheres, iniciaram um processo revolucionário de produção de cogumelos, através do aproveitamento de resíduos agrícolas, como serragem, resíduos vegetais e de papel, resíduos de óleo de palma e palha de trigo. Porém, o melhor substrato encontrado na região é a palha de arroz.

Atualmente várias espécies de *Pleurotus* são comercialmente cultivados na província de Kerala (figura 22). (fonte: [www.kisankerala.net/kissan/kissan](http://www.kisankerala.net/kissan/kissan))(Last Updated on: Dec 02, 2015)

##### 1.4.7.1. Aplicação prática do Método Kissan-Kerala com garrafas de plástico reutilizado na produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus*

O Método de cultivo de cogumelos Kissan-Kerala, de grande difusão na Índia, baseia-se na utilização de sacos de polietileno ou garrafas de plástico, com 30-60 cm de tamanho. As garrafas plásticas são cortadas em duas partes, geralmente na zona de transição da parte cilíndrica para a parte cónica, e perfuradas com cerca de 8 furos de 0,5-1,0 cm de diâmetro, distribuídos em espiral de modo a se permitir um bom arejamento. Utiliza-se, geralmente, 1 kg de palha de arroz seca, com 1 ano de idade, cortada em pedaços de 5-8 cm de comprimento. Após o corte, a palha é imersa em água durante 18 horas. Seguidamente é colocada num cesto de vime, durante 1-2 horas, para permitir que alguma água, em excesso, seja eliminada.

---

<sup>2</sup> [https://pt.wikipedia.org/wiki/Muhammad\\_Yunus](https://pt.wikipedia.org/wiki/Muhammad_Yunus)



Figura 22 – Kerala – por vezes referido em termos históricos como Keralam, é um estado no sul da Índia na costa de Malabar. Seu brasão. (fonte: <https://en.wikipedia.org/wiki/Kerala>)

A palha humedecida é, então, pasteurizada a cerca de (100°C) durante 30-40 minutos, sendo, de seguida, retirada e mantida no interior do cesto para drenar o excesso de água, deixando-se arrefecer.

Esta palha está, assim, pronta para ser colocada nos sacos ou garrafas de plástico. O processo de enchimento das garrafas é algo complexo. Inicia-se com a compressão manual da palha, ainda no exterior, de forma a evitar, ao máximo, a presença do oxigénio. Posteriormente, colocam-se, no interior da garrafa, cerca de 5 cm de altura de palha (deve ficar bem comprimida) ao que se segue a colocação do inóculo, com a ajuda de uma colher de sopa, desde a superfície de contato com a garrafa até ao centro (em espiral). Fundamental é o cuidado a ter nesta fase, pois muito do sucesso depende dela. Repete-se o processo até que a garrafa esteja completamente cheia de palha. Deve ter-se sempre o cuidado de apertar bem a palha dentro das garrafas o mais possível de forma a não surgirem espaço. Finalmente, a duas partes da garrafa de plástico são encaixadas e fechada hermeticamente com fita-cola. A incubação é mantida por um período de 15-20 dias, em ambiente escuro e controlo integrado de roedores. A incubação deve ser realizada, para ter sucesso, a uma temperatura de 28-30° C e humidade relativa do ar de 80-85% (Kissan Kerala Operation Centre, 2015).

Para se obter um bom rendimento este método recomenda 2-2,5% de inóculo por quantidade de substrato.

Durante a incubação as garrafas são colocadas em plataforma ou prateleiras. Periodicamente devem-se observar as garrafas de modo a eliminar possíveis contaminações. A ocorrência de crescimentos esbranquiçados na totalidade do substrato é sinal de sucesso da incubação.

Passados 15 dias, após o início da incubação, removem-se os tampos das garrafas colocando-as na sala de cultivo (sala de frutificação) em presença da luminosidade para que se formem os carpóforos, ou primórdios dos corpos de frutificação. A sala de frutificação deve ser bem ventilada mantendo-se, porém, uma humidade relativa do ar de 80-85%. Se a temperatura ambiente subir acima de 30° C,

deve-se aspergir com água para baixar a temperatura. Luz difusa é essencial para uma frutificação normal.

A formação dos corpos de frutificação começa em 20 dias e serão 2-3 dias necessários para a maturação dos corpos de frutificação, e posterior colheita dos cogumelos (fonte:<http://www.kissankerala.net/kissan/kissancontents/alied.jsp#mush>).

Todas as garrafas de plástico reutilizado foram acondicionadas num local livre de doenças, pragas e insetos, de forma a não originar quaisquer tipos de contaminações iniciais na fase do ciclo de produção do cogumelo da espécie *Pleurotus ostreatus*.

#### **1.4.8. Produção e Eficiência Biológica dos cogumelos *Pleurotus ostreatus* em garrafas de plástico reutilizado**

O parâmetro quantitativo para avaliação de um substrato com relação aos cogumelos produzidos pode ser feito de duas formas bem distintas, através da eficiência biológica ou através da produtividade biológica (Miles & Chang, 1997).

A quantificação da produção foi feita atendendo a dois parâmetros (ANEXO II):

$$\checkmark \text{ Produção (P) (\%)} = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)}}{\text{Massa fresca de substrato (g)}} \times 100$$

$$\checkmark \text{ Eficiência Biológica (E.B.) (\%)} = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)}}{\text{Massa seca de substrato (g)}} \times 100$$

A produção de cogumelos varia em função dos fatores biológicos, condições ambientais e pragas e doenças presentes durante o cultivo, sendo que o rendimento de uma produção comercial é de, aproximadamente, 20% do peso do substrato húmido de pleurotos frescos (Oei,2006).

As palhas promovem uma eficiência biológica maior em relação a substratos como serragem e troncos de madeira, porque favorecem o arejamento do substrato. Alguns fatores, em relação ao substrato, contribuem para aumentar a eficiência biológica: (i) utilização de mistura de substratos; (ii) esterilização adequada do substrato; (iii) densidade do substrato (Patrabansh & Madan, 1997).

## 2.MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se 3 lotes dos diferentes tipos de substratos utilizados na amostra experimental de 30 garrafas de plástico reutilizado, nomeadamente:

¥ Lote I – Palha de Trigo (100%);

¥ Lote II – Palha de Trigo (50%) + Folhas de Bananeira (*Musa spp.*) (50%);

¥ Lote III – Palha de Trigo (50%) + Folhas de Abacateiro (*Persea americana* Mill) (50%);

No estudo do desenvolvimento e crescimento da espécie de cogumelo *Pleurotus ostreatus* utilizaram-se 30 garrafas de plástico reutilizado, seguindo-se o Método Kissan-Kerala adaptado segundo o novo fluxograma de ciclo de produção (figura 13 – fluxograma de produção criado pelo autor).

As garrafas de plástico reutilizado foram gentilmente oferecidas pela Resiaçores - uma empresa de reciclagem de plásticos, vidros, papel, papelão, etc. da ilha Terceira.

### 2.1.Material utilizado

Utilizamos no nosso estudo 2,0 kg de uma linhagem de *Pleurotus ostreatus* obtida da empresa Bioinvitro Biotecnologia, Lda com ref. SP O1 – Spawn de *Pleurotus ostreatus*). (Figura 14) Segundo Oei (2006) o termo “spawn” é utilizado como sinónimo da palavra “semente” ou inóculo de cogumelo.



Figura 14- Spawn de *Pleurotus ostreatus* (adquirido pelo autor na empresa Bioinvitro em Junho de 2015) (foto do autor,2015)

### 2.1.1. Preparação do substrato

Para a preparação do substrato dispusemos de tambores (bidões) de 200 l e garrafas de plástico (reutilizadas). As palhas foram inicialmente colocadas em caixas de plástico de 25 l (da Lotaçor) para se proceder ao seu humedecimento (palha de trigo, folhas de bananeira e folhas de abacateiro), durante 24 h.

A mistura dos ingredientes do substrato foi realizada à mão, não obstante que para volumes maiores se possam utilizar algumas máquinas. O substrato foi, após a mistura, colocado num bidão de 200 l, ao que se tapou o mesmo com água ate ficar totalmente submerso tendo-se, de seguida, sido aquecida até uma temperatura de 71°, durante 2 horas (pasteurização por emersão em água quente)

As garrafas foram suspensas, a partir de uma estrutura existente no teto, (pé-direito de 3,0 m) a uma altura de 1,5 m a 1,65, com o recurso a fios nylon.

### 2.1.2. Tipos de substratos

No estudo utilizaram-se três tipos de substrato (figura 15).



Figura 15 - Tipos de substratos utilizados (foto do autor, 2015)

✱ Palha de trigo

✱ Folhas de bananeira (*Musa spp.*)

✱ Folhas de abacateiro (*Persea americana Mill.*)

(Nota: todos os substratos foram secos ao Sol, exceto a palha de trigo que foi adquirida em fardos).

#### 2.1.2.1. Palha de trigo

A palha de trigo é um dos substratos tradicionalmente utilizados no cultivo de *Pleurotus* (figura 16).

Adquirimos, no mercado local, fardos de palha de trigo importadas de Espanha com, aproximadamente, 32 kg.

A composição química da palha de trigo ronda os 33 a 42% de celulose, 25 a 32% de hemicelulose, 16 a 23% de lenhina e menos de 1% de extrativos (Kerstetter & Lyons, 2001). Cândido *et al*, (2004) mencionam valores de 33,81% para a celulose, 31,83% para a hemicelulose e 20,12 % para a lignina.

A palha foi cortada, com o auxílio de uma tesoura, em pedaços que variavam dos 2 a 5 cm de comprimento.



Figura 16 - Palha de trigo (foto do autor,2015)

#### 2.1.2.2. Folhas de bananeira (*Musa spp.*)



Figura 17 – Folhas de bananeira (*Musa spp.*) (foto do autor,2015)



Segundo Sturion (1994) os resíduos da bananeira representam uma proporção equivalente a 40% do peso do fruto e as folhas representam 15 % da planta completa. De acordo com a mesma autora, a palha das folhas de bananeira apresenta relação C/N de 25:1, um teor de proteína de 9,38%, um teor de fibra bruta de 32,3%, com índices de lenhina de 15,37%, de celulose de 34,13% e de hemicelulose de 20,1%.

Aproveitamos as folhas da limpeza, que geralmente se colocam sobre o solo, de explorações de Angra do Heroísmo. Após o corte as folhas as mesmas foram colocadas a secar, durante 5 dias, à temperatura ambiente.

Passado o período de secagem foram cortadas com o auxílio de um triturador com uma dimensão de cerca de 2 a 5 cm.

### 2.1.2.3.Folhas de abacateiro (*Persea americana* Mill.)

O abacateiro (*Persea americana* Mill.) (figura 19) pertence à família Lauraceae, gênero *Persea*, o qual compreende três variedades botânicas, em uma única espécie: *Persea americana* var. *americana*; *Persea americana* var. *guatemalensis* e *Persea americana* var. *drymifolia*, Barwick (2004).



Figura 18 – Folhas de abacateiro (*Persea americana* Mill) (foto do autor, 2015)

Utilizamos folhas de abacateiros que se encontravam em período de crescimento ativo. Após o corte foram colocadas a secar, durante 5 dias, à temperatura ambiente (figura 18).

Passado o período de secagem foram cortadas com o auxílio de um triturador com uma dimensão de cerca de 2 a 5 cm. Dadas as características das folhas, muitas vezes elas desfaziam-se o que substituíam o corte com a trituradora.

## **2.2. Método de tratamento - Pasteurização**

Antes da incubação os substratos sofreram um tratamento pelo calor, técnica imprescindível para o controle de pragas e de doenças.

### **2.2.1. Pasteurização por imersão em água quente**

A pasteurização do substrato foi feita por imersão em água quente, dado ser um método simples, praticável para vários tipos de resíduos.

O substrato foi posto em cilindros de malha de arame colocados em água a ser aquecida. A água, após aquecimento, foi mantida a uma temperatura um pouco superior a 70 °C durante 60 minutos.

### **2.2.2. Materiais e equipamentos necessários**

Na pasteurização utilizamos os seguintes materiais: Os materiais e os equipamentos necessários que foram utilizados na pasteurização da palha são:

- ✓ 1 bidão de 200 litros;
- ✓ 1 Cesto cilíndrico de rede de arame (figura 19) - feito com capacidade para 30 kg de palha;
- ✓ 1 Termômetro para medição da pasteurização da palha – 71°C durante 2 horas;
- ✓ Lenha (combustível para aquecer a água);
- ✓ Pesos (por ex: tijolos)



Figura 19 – Cesto cilíndrico de rede de arame (foto do autor,2015)



### **2.3. Fases do processo de produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus* em garrafas de plástico reutilizado**

O processo de produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus* em garrafas plásticas reutilizadas desenvolve-se, essencialmente, em 7 fases principais (especificamente discriminadas na figura 13 do fluxograma de produção):

- 1- Recolha de garrafas de plástico reutilizado
- 2- Lavagem e tratamento asséptico das garrafas de plástico reutilizado
- 3- Fase de pasteurização do substrato
- 4- Fase de inoculação (spawn) das garrafas plástico reutilizado
- 5- Fase de incubação das garrafas de plástico reutilizado
- 6- Fase de frutificação das garrafas de plástico reutilizado
- 7- Pesagem e recolha das amostras de cogumelos *Pleurotus ostreatus*

#### **2.3.1. Recolha de garrafas de plástico reutilizado**

As garrafas de plástico reutilizado foram gentilmente oferecidas pela Resiaçores (empresa de reciclagem da Região Autónoma dos Açores).

Todas as garrafas de plástico reutilizado foram mantidas num local livre de doenças, pragas e insetos, de forma a não originar quaisquer tipos de contaminações iniciais na fase do ciclo de produção do cogumelo da espécie *Pleurotus ostreatus*.

#### **2.3.2. Lavagem e tratamento asséptico das garrafas plástico reutilizado**

A lavagem e o tratamento asséptico das garrafas de plástico reutilizado seguiram os passos determinantes das Boas Práticas de Higiene (Lurdes Dapkevicius, MTSA;2014) (conforme tabela 4) que são os seguintes:

- 1º Enxaguamento das GPR - Remoção das sujidades maiores com aplicação de água;
- 2º Limpeza das GPR – Remoção de sujidades pela aplicação de detergente (foi utilizado Fairy bactericida pelo autor);
- 3º Enxaguamento das GPR – Remoção do detergente com água corrente;

4° Desinfecção das GPR (L+D) – Desinfecção das GPR com adição de hipoclorito de sódio <5% com água durante 12 horas em imersão água fria, permitindo a destruição de bactérias pelo aplicação de desinfetante;

5° Enxaguamento das GPR (L+D) – Remoção de desinfetante com água corrente

6° Secagem das GPR - Remoção do excesso de água.

Utilizamos uma medida de controlo integrado/não invasivo com recurso a um controlo não tóxico (ecológico) para apanha-moscas ou Kyzone (fly controlo spiral) (figura 20), no qual, e segundo o fabricante, é eficaz durante as 24 horas do dia, 6 a 8 semanas.



Figura 20 – Apanha-moscas (Kyzone) e colocação na sala de cultivo (fotos do autor, 2015).

Durante o processo prático seguiu-se um programa pré-requisito que é toda e qualquer atividade ou instalação específica que é implementada em correspondência com os Requisitos Gerais para a Higiene Alimentar do Codex Alimentarius, com as Boas Práticas de Fabrico e a legislação vigente, com o objetivo de criar os requisitos básicos necessários para a produção e processamento de alimentos seguros em todas as etapas da cadeia alimentar (Dapkecvicius, MTSA, 2014).

### **2.3.3. Fase de inoculação (spawn) das garrafas plástico reutilizado**

Uma vez terminada a fase de pasteurização colocou-se o substrato em escorrimento numa superfície asséptica no interior da sala de inoculação para que, além de perder humidade, possa arrefecer a uma temperatura inferior a 30.C (a temperatura é controlada com o auxílio de um termómetro).

Após se atingir esta temperatura adicionou-se ao substrato  $\text{CaCO}_3$  (cal hidratada) numa proporção de 2%. Seguidamente o substrato, após compressão manual, foi colocado nas garrafas de plástico reutilizado, até uma altura de 5 cm, (bem comprimido) ao que se procedeu à inoculação, no

sentido na periferia para o centro, do inóculo com uma dosagem de cerca de 3% do peso do substrato. O inóculo utilizado foi adquirido à empresa Bioinvitro, Lda.

#### **2.3.4. Fase de incubação das garrafas de plástico reutilizado**

A fase de incubação ou colonização micelial inicia-se com o desenvolvimento do micélio através do substrato (figura 21). Após a inoculação as garrafas foram colocadas em prateleiras na ausência de luz, a uma temperatura ambiente de 25 °C.



Figura 21- Fase de incubação ou colonização micelial – garrafa 22 (Lote III) (foto do autor, 2015)

Quando se verificou que os micélios estavam plenamente desenvolvidos, o que nos indicava de sucesso de colonização micelial, fizeram-se pequenos buracos ou cortes nas garrafas de forma a

proporcionar um bom arejamento, para proporcionar um bom desenvolvimento dos primórdios dos corpos de frutificação.

### 2.3.5. Fase de frutificação das garrafas de plástico reutilizado

As garrafas, após a fase da incubação, foram colocadas num ambiente com as seguintes características: temperatura de 17-20.° C (baixou de 25°C); luminosidade, por períodos de 12 horas (150 lux); humidade relativa do ar de 90%; ventilação mecânica para permitir um melhor controlo da temperatura e eliminação do CO<sub>2</sub>.



Figura 22- Fase de frutificação – pequenos primórdios ou corpos iniciais de frutificação – garrafa 13 (Lote II) (foto do autor, 2015).

Após o aparecimento dos primeiros primórdios (figura 22) as garrafas foram submetidas a um sistema de rega por micro aspersão (manualmente com borrifadores), por períodos de 2,5 minutos de 3 em 3 horas (pelos menos 4 vezes ao dia).

Após a completa colonização, retiraram-se as rolhas (tampas) das garrafas para possibilitar um bom arejamento do substrato, o que facilita o desenvolvimento dos carpóforos.

#### 2.3.6. Pesagem e recolha das amostras de cogumelos *Pleurotus ostreatus*

Após cerca de 6-9 dias do início da frutificação procedeu-se à pesagem das garrafas. De seguida, colheram-se, aleatoriamente, 5 cogumelos por garrafa nos três diferentes lotes (lotes I, II e III). Na pesagem utilizou-se uma balança de precisão Mettler Toledo.

A colheita deve ser feita de forma cuidadosa, de modo a não danificar os carpóforos, pois é fundamental manter uma homogeneidade entre eles.

#### 2.4. Medição de Temperatura (°C) e Humidade Relativa do Ar (%) na sala de cultivo

A temperatura média na sala de cultivo foi de 23 °C, temperatura ideal para o desenvolvimento micelial, enquanto a temperatura para a frutificação se situou entre 17-20°C. (figura 23).

Em relação a média de humidade relativa do ar ao longo do ciclo de produção nas garrafas de plástico reutilizado foi de 82%, dado que os valores médios na fase incubação ou colonização micelial variam de 75-80% (sem luz) e na fase de frutificação variam de 85-95%

A temperatura e a humidade relativa do ar foram medidas com o auxílio de um higrómetro digital.

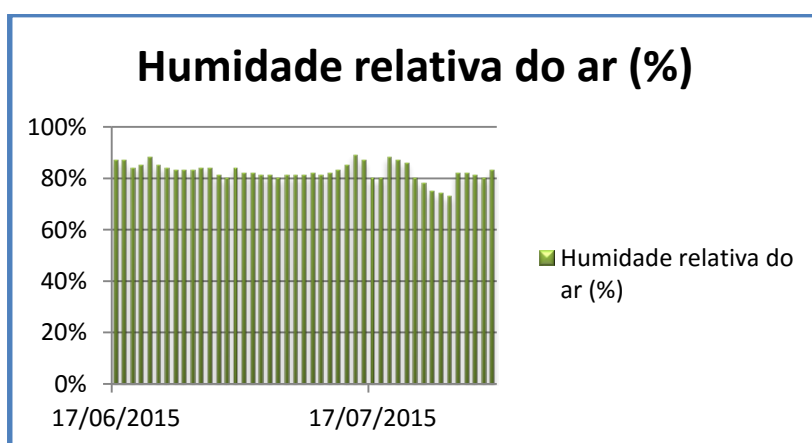


Figura 23 - Evolução da T(°C)/H.R.(%) nas fases de crescimento (incubação e frutificação) *Pleurotus ostreatus*

## **2.5. Métodos analíticos**

A amostra estudada foi seca a 65°C numa estufa com circulação de ar, até peso constante. De seguida foi moída num moinho com crivo de 1 mm. Para a caracterização química das forragens utilizámos o esquema de Weende. A Matéria Seca (MS) foi determinada em estufa com circulação de ar a 105°C até peso constante; a Proteína Bruta (PB), Gordura Bruta (GB) e Cinza Bruta (AOAC, 1990). Na análise da fibra (NDF, ADF, ADL) seguiu-se o esquema analítico de Goering e Van Soest (1970).

## **2.6. Análise estatística**

Os dados relativos à variação de peso do substrato ao longo do tempo (pesagens em 3 dias) nos três tratamentos (lotes) foram tratados com recurso a ANOVA fatorial de medições repetidas considerando-se os lotes como “between subjects factors” e o dia de pesagem como “within subjects variable”. Relativamente à comparação das médias dos parâmetros de resposta aos tratamentos (peso dos cogumelos, comprimento do pé, diâmetro do chapéu e eficiência biológica) recorreu-se à ANOVA simples. Sempre que a ANOVA detetava a existência de diferenças significativas entre tratamentos, seguia-se um teste de comparações múltiplas (Scheffe Post Hoc test) para identifica-las.

### 3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Evolução da humidade no substrato

Após o enchimento de cada garrafa com 51,2 g de matéria seca foram as mesmas submersas num recipiente com água com a finalidade de se humedecer o substrato (12 a 24 horas). Após esta fase de humedecimento é feito um tratamento térmico por pasteurização (71° C. durante 2 horas), ao que se segue a inoculação.

Durante a fase de colonização, que dura em média 20 dias, observamos alterações no peso das garrafas (Figura 24)

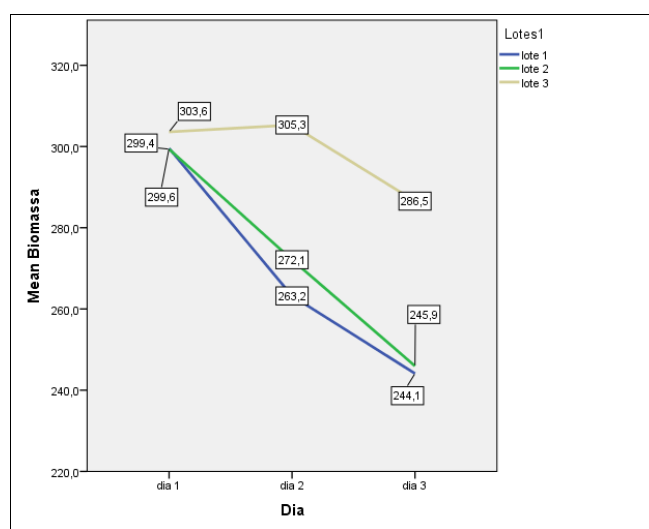


Figura 24 - Gráfico de variação da biomassa nos 3 lotes de substratos (I, II e III) (dados estatísticos no Anexo III)

Dia 1 – 1º dia de inoculação; Dia 2 – 15º dia após a inoculação; Dia 3 – 30º dia após a inoculação

Observaram-se, ao longo do período de colonização micelial, diminuições no peso da biomassa em cada garrafa. As diferenças entre tais diminuições não se revelaram significativas entre os Lote I e II, enquanto que no caso do Lote III a mesma foi significativa quando comparada com os Lotes I e Lote II ( $p < 0,001$ ) (Tabela 28a). Estes resultados estão de acordo com os reportados por Zadrazil & Brunnert (1981), Rajarathnam & Bano (1989), Ghosh *et al.* (1998) e Adamovie *et al.* (1998), que afirmam que o tempo de incubação e os números de fluxos influem diretamente na degradação do substrato.

Em relação ao tempo de colonização do meio, de uma forma geral o crescimento micelial da linhagem POS 09/100 de *P.ostreatus* foi relativamente rápido segundo Tabela 6, Cronograma do ciclo de Produção *Pleurotus ostreatus*. Esta característica é muito favorável pois com um tempo de colonização inferior reduz-se o risco de contaminação e o período de incubação e formação de basidiomas, tornando a produção mais promissora (Marino *et al.*,2008)

Tabela 6 - Cronograma do ciclo de produção *Pleurotus ostreatus* em garrafas de plástico reutilizado: 1.Fases do Cultivo: Fase de inoculação, Fase de incubação (ou de colonização micelial), Fase de frutificação (1ºs primórdios e colheita de cogumelos) e a Fase de repouso (autor, 2015).

Dias do Ciclo	Fases do Cultivo	Dias do Ciclo	Fases do Cultivo
17-06-2015	Inoculação (mícelio)	24-07-2015	Repouso (s/luz)
18-06-2015	Incubação (s/luz)	25-07-2015	1ºs primórdios (c/luz)
19-06-2015	Incubação (s/luz)	26-07-2015	1ºs primórdios (c/luz)
20-06-2015	Incubação (s/luz)	27-07-2015	1ºs primórdios (c/luz)
21-06-2015	Incubação (s/luz)	28-07-2015	Frutificação (2ª colheita)
22-06-2015	Incubação (s/luz)	29-07-2015	Frutificação (2ª colheita)
23-06-2015	Incubação (s/luz)	30-07-2015	Frutificação (2ª colheita)
24-06-2015	Incubação (s/luz)	31-07-2015	Fim do ciclo
25-06-2015	Incubação (s/luz)		Desinfecção...
27-06-2015	Incubação (s/luz)		...
28-06-2015	Incubação (s/luz)		...
29-06-2015	Incubação (s/luz)		...
30-06-2015	Incubação (s/luz)		Novo Ciclo
01-07-2015	Incubação (s/luz)		
02-07-2015	Incubação (s/luz)		
03-07-2015	Incubação (s/luz)		
04-07-2015	Incubação (s/luz)		
05-07-2015	Incubação (s/luz)		
06-07-2015	Incubação (s/luz)		
07-07-2015	Incubação (s/luz)		
08-07-2015	Incubação (s/luz)		
09-07-2015	Incubação (s/luz)		
10-07-2015	Incubação (s/luz)		
11-07-2015	Incubação (s/luz)		
12-07-2015	1ºs primórdios (c/luz)		
13-07-2015	1ºs primórdios (c/luz)		
14-07-2015	1ºs primórdios (c/luz)		
15-07-2015	Frutificação (1ª colheita)		
16-07-2015	Frutificação (1ª colheita)		
17-07-2015	Frutificação (1ª colheita)		
18-07-2015	Repouso (s/luz)		
19-07-2015	Repouso (s/luz)		
20-07-2015	Repouso (s/luz)		
21-07-2015	Repouso (s/luz)		
22-07-2015	Repouso(s/luz)		
23-07-2015	Repouso (s/luz)		



### 3.2. Produção (%) nos Lotes I,II e III

Nas figuras 25, 26 e 27 apresentam-se os níveis de produção (1.º fluxo, ou colheita) nas diferentes garrafas dos Lote I, Lote II e Lote III, o qual não é mais do que a relação entre a massa fresca de cogumelo (g) sobre a massa fresca do substrato (g).

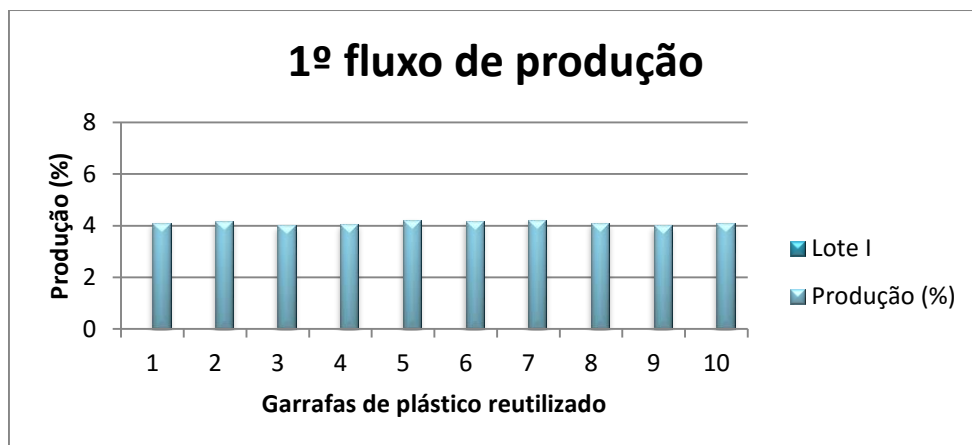


Figura 25 – 1º Fluxo de produção no Lote I – Palha de trigo (100%)

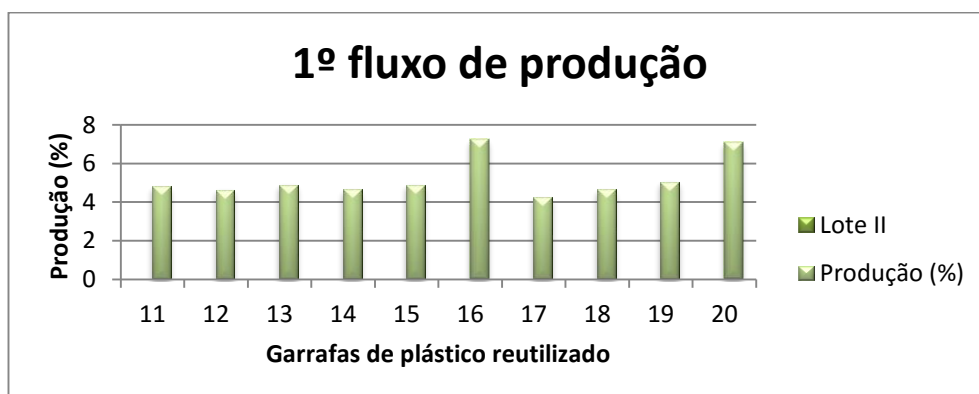


Figura 26 – 1º Fluxo de produção no Lote II – Palha de trigo (50%) + Folha de bananeira (50%) (*Musa spp.*)

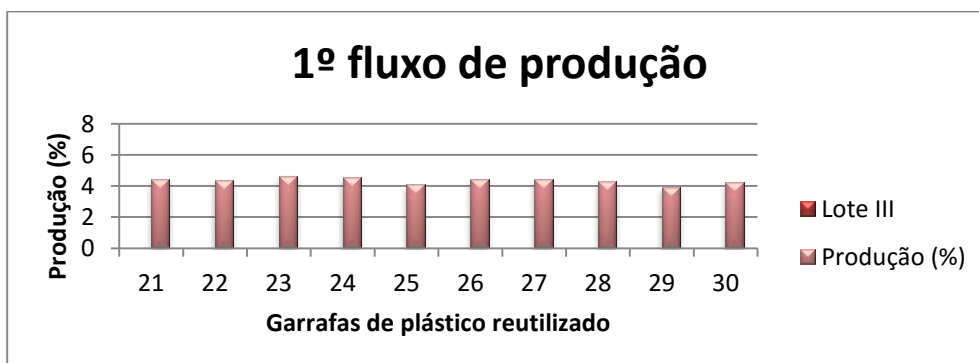


Figura 27 – 1º Fluxo de produção no Lote III – Palha de trigo (50%) + Folha de abacateiro (50%) (*Persea americana* Mill).

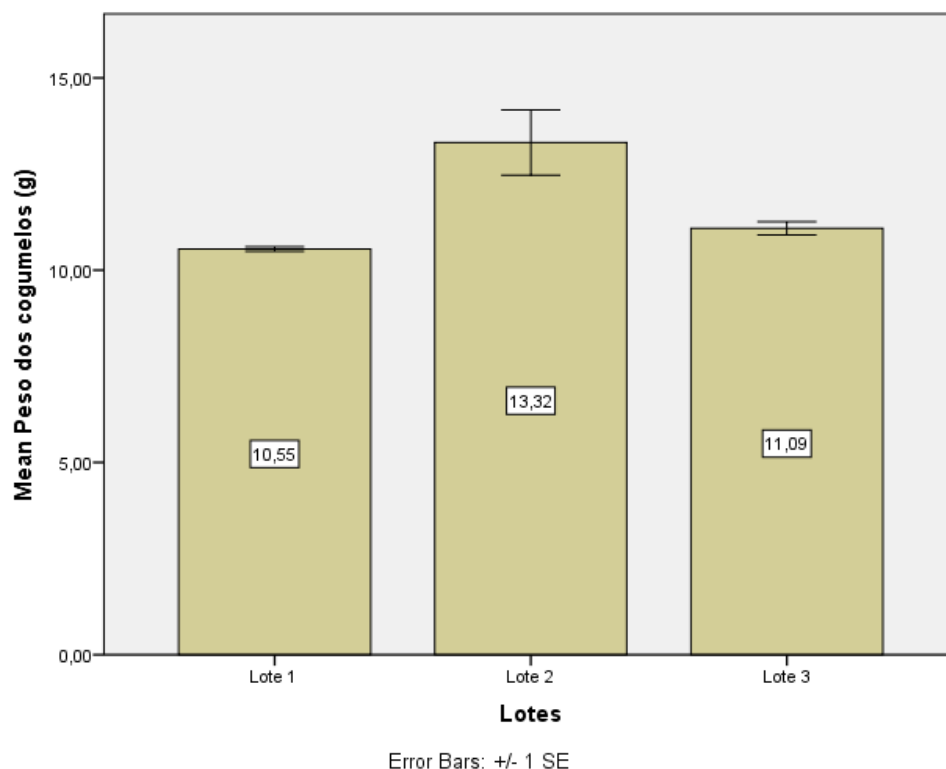


Figura 28 – Média dos pesos no 1º Fluxo de produção nos Lotes I, II e III

As produções médias, no primeiro fluxo, encontram-se expressas na Figura 28. Como se pode verificar, foi no Lote II (substrato de palha de trigo com folhas de bananeiras) quês e conseguiram os melhores resultados médios (13,32 g), ao passo que tal valor foi de 10,55 gr nos substratos à base de palha de trigo (Lote I) e de 11,09 g no substrato com palha e folhas de abacateiros (Lote III).

Não existem diferenças significativas entre estes valores médios ao nível das produções atingidas nos Lotes I e III. Porém, o mesmo não se pode dizer entre as produções conseguidas nos Lotes I e II ( $P < 0,002$ ) e entre os Lotes II e III ( $P \leq 0,015$ ), em que tais diferenças são altamente significativas (Anexo III)

De fato, é com o substrato à base de palha de trigo com folhas de bananeiras que se conseguiram os melhores resultados, ao nível da primeira colheita (13,32 g). Este valor é tão mais importante ao verificar-se que representa um acréscimo de 25,31 % do que a produção atingida no Lote I (10,55 gr) e de 20,11% em relação à produção obtida no Lote III.

Se admitirmos que o ensaio original partiu de 51,2 g de peso seco de substrato, conseguimos uma taxa de produtividade de 25,82% (258,203 g/kg de matéria seca), valores estes superiores aos 20% do peso do substrato húmido de pleurotos frescos referenciados por Oei (2006). Patil et al, (2010) referem produtividades de 302,33 g/kg de matéria seca à base de palha de trigo, no primeiro fluxo. Porém, obtiveram valores bem superiores ao utilizarem palhas de soja ou de arroz, respetivamente 390,00 e 405,00 g/kg de matéria seca.

Bonatti et al, (2001) obtiveram, para os dois primeiros fluxos, médias de rendimento de 263,8 % com palhas de trigo e de 110,8 com folhas de bananeira secas.

No segundo fluxo as produções de cada garrafa, e por fluxo, foram inferiores, como se pode observar nas Figuras 29, 30 e 31.

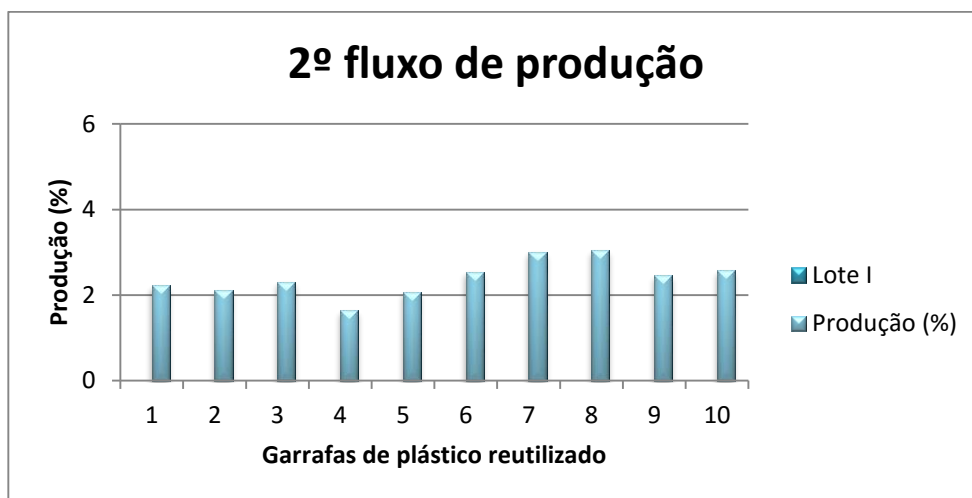


Figura 29 – 2º Fluxo de produção no Lote I – Palha de trigo (100%)

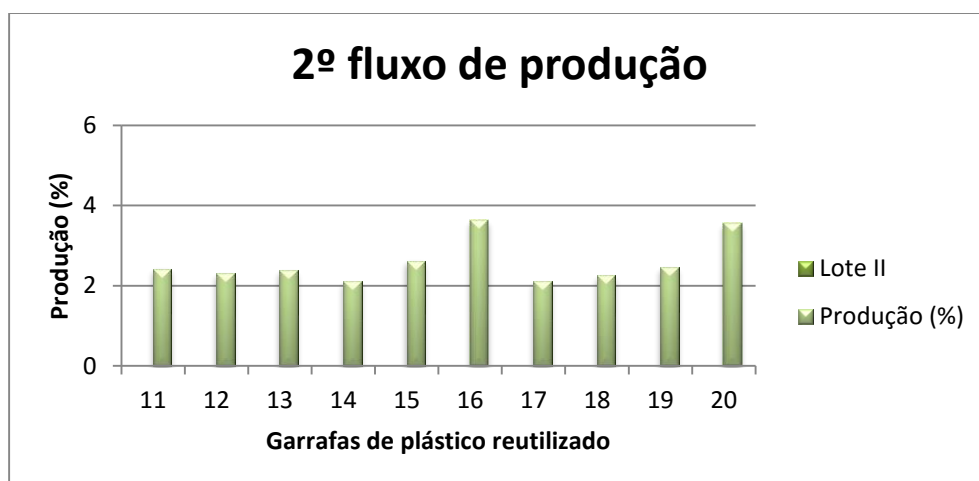


Figura 30 – 2º Fluxo de produção no Lote II – Palha de trigo (50%) +Folha de bananeira (50%) (*Musa spp.*)

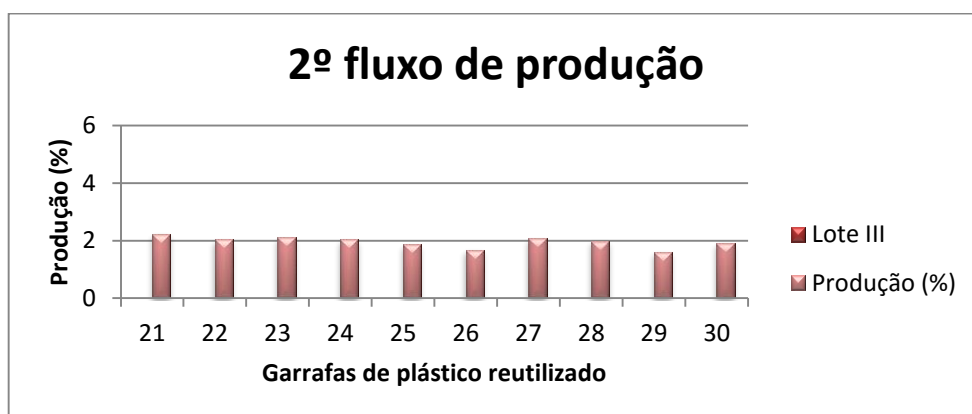


Figura 31 – 2º Fluxo de produção no Lote III – Palha de trigo (50%) +Folha de abacateiro (50%) (*Persea americana Mill*)

As produções médias, no segundo fluxo, encontram-se expressas na Figura 32. Como se pode verificar, foi no Lote II (substrato de palha de trigo com folhas de bananeiras) que se conseguiram os melhores resultados médios (6,62 g), ao passo que tal valor foi de 6,14 g nos substratos à base de palha de trigo (Lote I) e de 5,00 g no substrato com palha e folhas de abacateiros (Lote III).

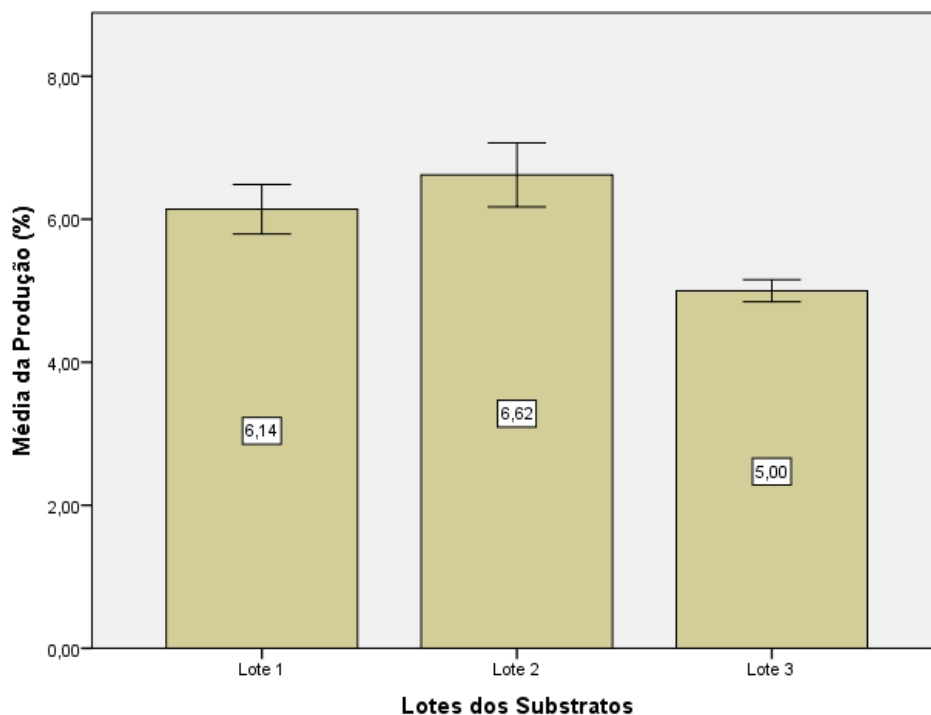


Figura 32 – Média dos pesos no 2º Fluxo de produção nos Lotes I, II e III

Não existem diferenças significativas entre estes valores médios ao nível das produções atingidas nos Lotes I e II. Porém, o mesmo não se pode dizer entre as produções conseguidas entre os Lotes I e III ( $P < 0,077$ ) e entre os Lotes II e III ( $P < 0,009$ ), em que tais diferenças são altamente significativas (Anexo IV).

De fato, é novamente com o substrato à base de palha de trigo a que se adicionaram folhas de bananeiras que se conseguiram os melhores resultados, ao nível da segunda colheita (6,62 g). Este valor é tão mais importante ao verificar-se que representa um acréscimo de 7,25 % do que a produção atingida no Lote I (6,14 g) e de 24,47% em relação à produção obtida no Lote III.

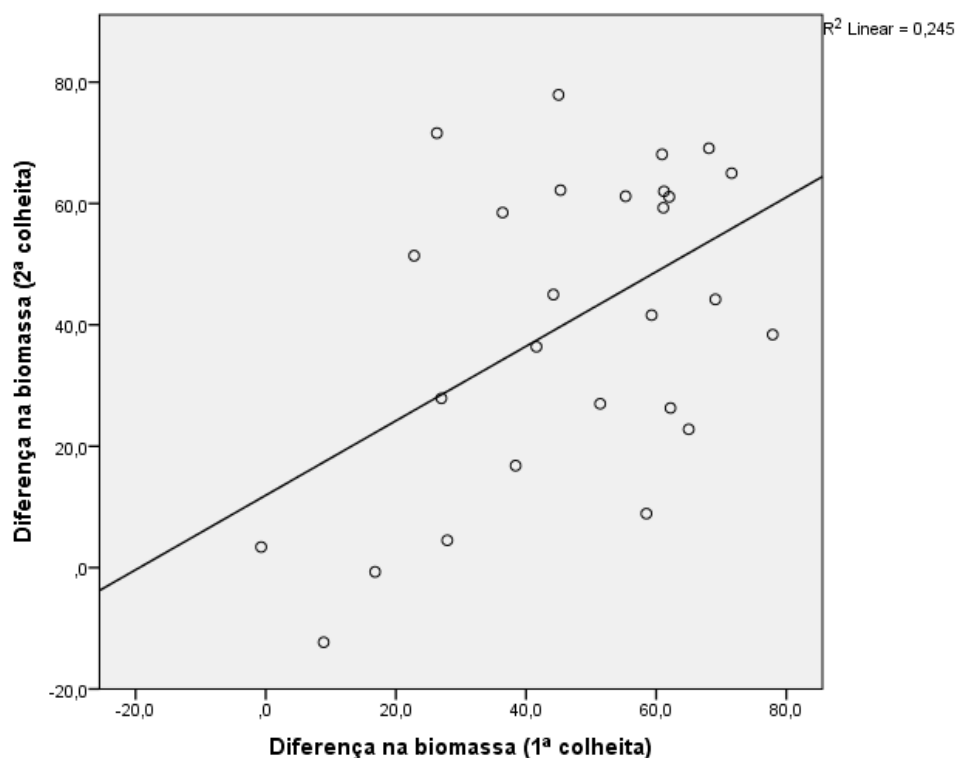


Figura 33 - Correlação entre as produções ao nível do primeiro e do segundo fluxo.

Um dos fatores determinantes no cultivo de cogumelos é a seleção de substratos para a produção em que de acordo com Tisdale *et al.* (2006), materiais adequados, tanto biológica como economicamente, são fundamentais para o sucesso do cultivo.

Segundo Carvalho *et al.*, (2013) a partir dos resultados obtidos no estudo de cultivo *in vitro* de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de bananeira, verificaram-se que a utilização dos resíduos de bananeira mostrou-se viável para o cultivo *in vitro* da linhagem POS 09/100 de *P. ostreatus*, apresentando-se como uma ótima alternativa para o cultivo, além de diminuir a sua disposição no meio ambiente.

Verificou-se que as melhores médias foram obtidas dos basidiomas cultivados no composto de folhas de bananeira da variedade Prata anã (35,4%).

Tudo indica, segundo Freer & Detroy (1982) que teores elevados de lignina num substrato dificultam o desenvolvimento do fungo, pois certamente ocorre um maior gasto metabólico ao se desenvolver em materiais ricos neste componente, dificultando o acesso à celulose e hemicelulose. Esta pode ser a justificação para os melhores rendimentos quer em produção, quer em eficiência biológica atingida com o Lote III (50% de palha de trigo e 50% de palha folhas de abacateiro).

### 3.3. Eficiência Biológica (%) nos Lotes I,II e III

A eficiência biológica é um dos parâmetros quantitativos mais utilizados na avaliação de um substrato em relação aos cogumelos produzidos (Miles & Chang, 1997).

$$\checkmark \text{ Eficiência Biológica (E.B.) (\%) } = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)}}{\text{Massa seca de substrato (g)}} \times 100$$

Nas Figuras 34, 35 e 36 apresentam-se as eficiências biológicas do 1º fluxo de produção nos três Lotes.

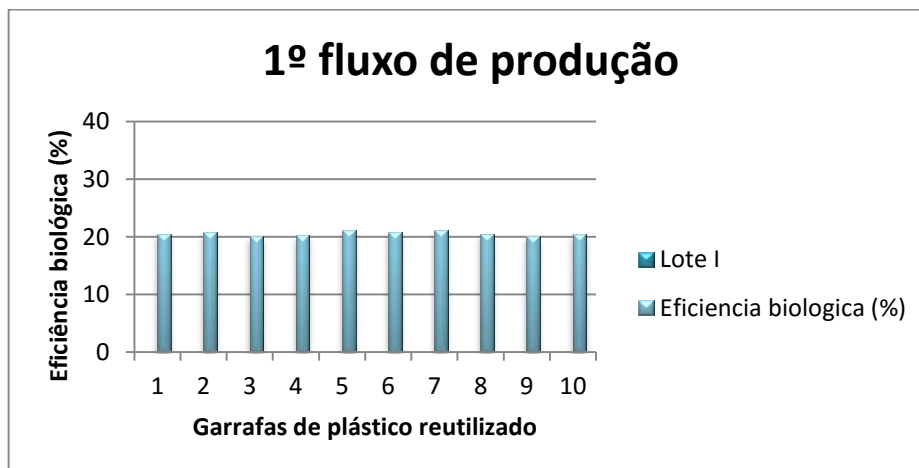


Figura 34 – Eficiência Biológica (%) no 1º Fluxo de produção no Lote I

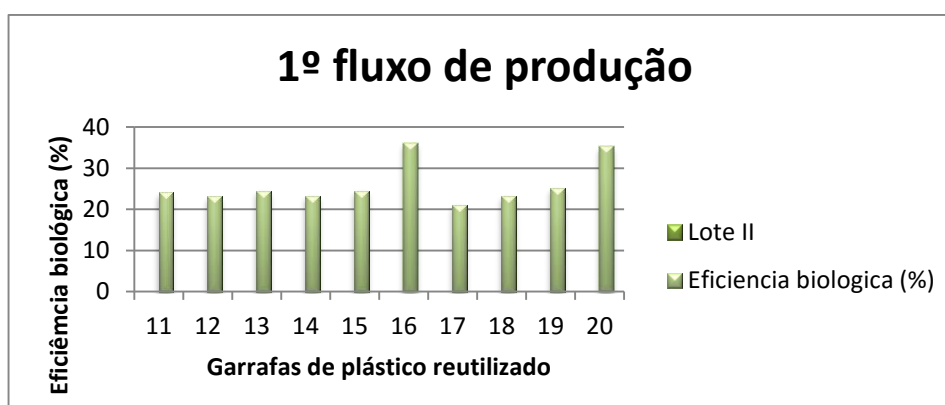


Figura 35 – Eficiência Biológica (%) no 1º Fluxo de produção no Lote II

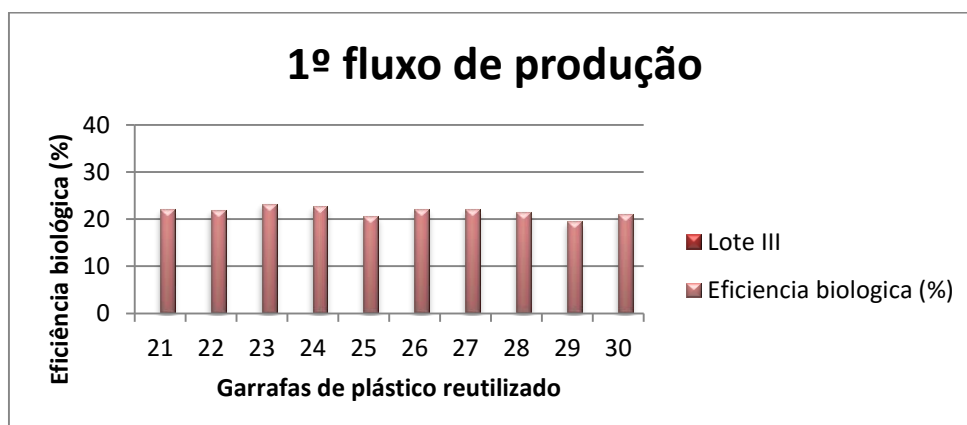


Figura 36 – Eficiência Biológica (%) no 1º Fluxo de produção no Lote III

Tal como se observou em relação ao peso médio de cogumelos conseguidos nos diferentes Lotes, a melhor eficiência biológica foi obtida no Lote II (26,00%), existindo diferenças significativas entre este valor e as produções atingidas nos Lotes I (20,6%) ( $P < 0,002$ ) e Lote III (21,67%) ( $P < 0,016$ ) (figura 37) (Anexo V).

Ramos *et al.* (2011) obtiveram, para a eficiência biológica na produção em sacos com substrato de palha de trigo, de 188,0 g. Porém estes resultados foram conseguidos com inoculações de 10% de micélio, o que é diferente da opção por nós tomada (5%). De igual modo Patil *et al.*, (2010) conseguiram 73%, muito embora não mencionem a percentagem de micélio utilizada na inoculação.

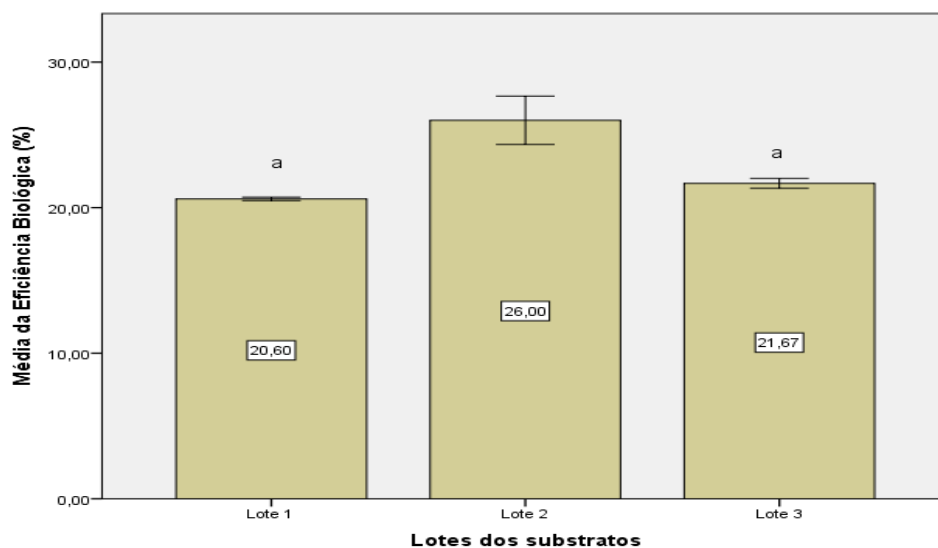


Figura 37 - Gráfico das médias de eficiência biológica (%) dos cogumelos no 1º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I, II e III). Médias que não partilham nenhuma letra diferem significativamente ( $p < 0,05$ )

Nas Figuras 38, 39 e 40 apresentam-se as eficiências biológicas do 1º fluxo de produção nos três Lotes.

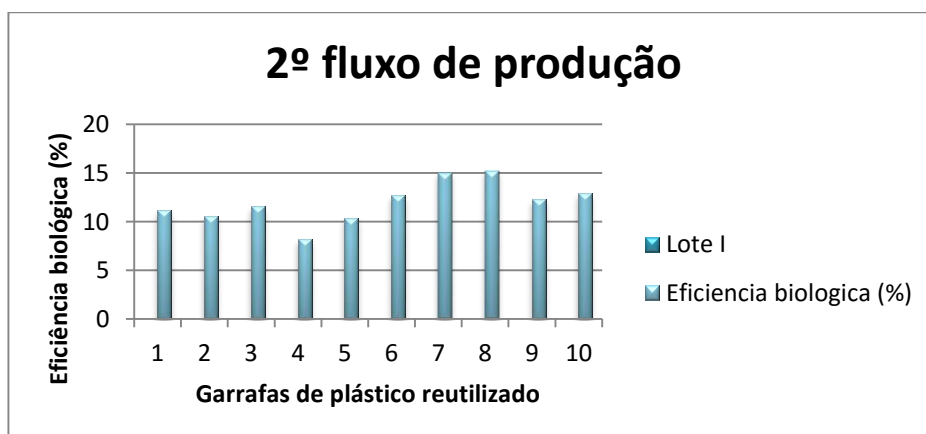


Figura 38 – Eficiência Biológica (%) no 2º Fluxo de produção no Lote I

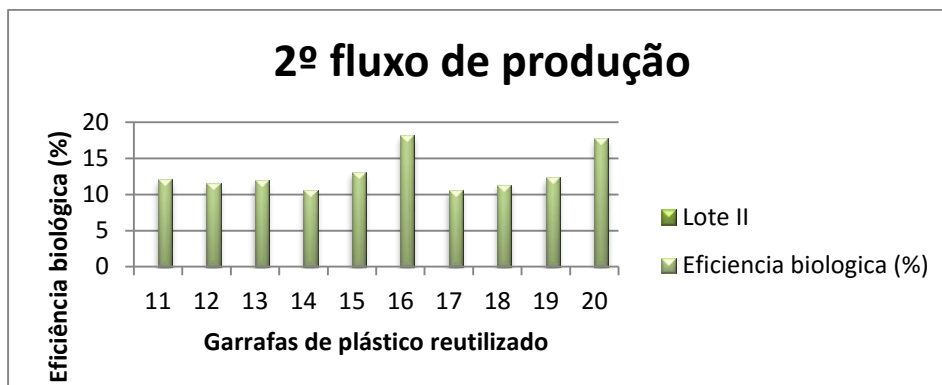


Figura 39 – Eficiência Biológica (%) no 2º Fluxo de produção no Lote II

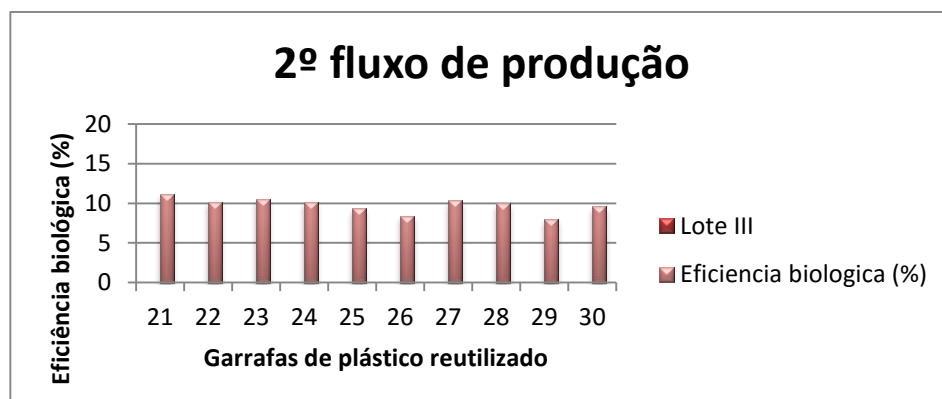


Figura 40 – Eficiência Biológica (%) no 2º Fluxo de produção no Lote III

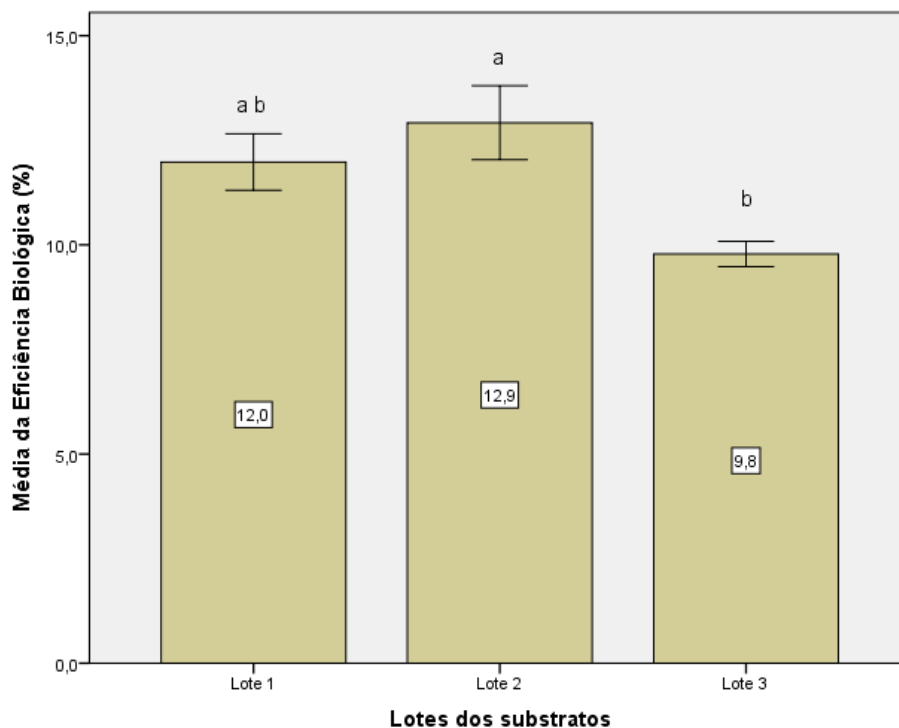


Figura 41 - Gráfico das médias de eficiência biológica (%) dos cogumelos no 2º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I, II e III). Médias que não partilham nenhuma letra diferem significativamente ( $p < 0,01$ )



No segundo fluxo, a melhor eficiência biológica foi obtida, à semelhança do que se obteve para o primeiro, no Lote II (12,90%), existindo diferenças significativas entre este valor e eficiência biológica atingidas nos Lotes III (9,8%) ( $P < 0,009$ ), o que não se verifica entre as eficiências nos Lotes I e II. (figura 41) (Anexo VI).

Como se pode constatar, a eficiência biológica foi bem menor no segundo fluxo, atingindo-se valores em média inferiores em cerca de 50%.

### 3.4. Comprimento do pé (cm) e diâmetro do chapéu (cm) nos Lotes I,II e III

O comprimento do pé é um dos parâmetros morfológicos mais considerados na produção de cogumelos, pois dão-nos uma indicação da eficiência biológica. Na Figura 42 estão representadas as médias do comprimento de pé para os diferentes Lotes. Como se pode observar, existem diferenças significativas no tamanho do pé entre o Lote I (1,01 cm) e os Lotes II (2,99 cm) e III (2,29 cm). Estes dados corroboram com os dados de Ramos *et al.* (2011) que obteve, para produções de *Pleurotus ostreatus* á base de palha de trigo e em sacos, comprimentos médios de 1,9 cm e de 1,9 cm para a espécie *Pleurotus sajor-caju*. Porém, no caso do *Pleurotus eryngii*, este valor foi muito superior (4,2 cm)

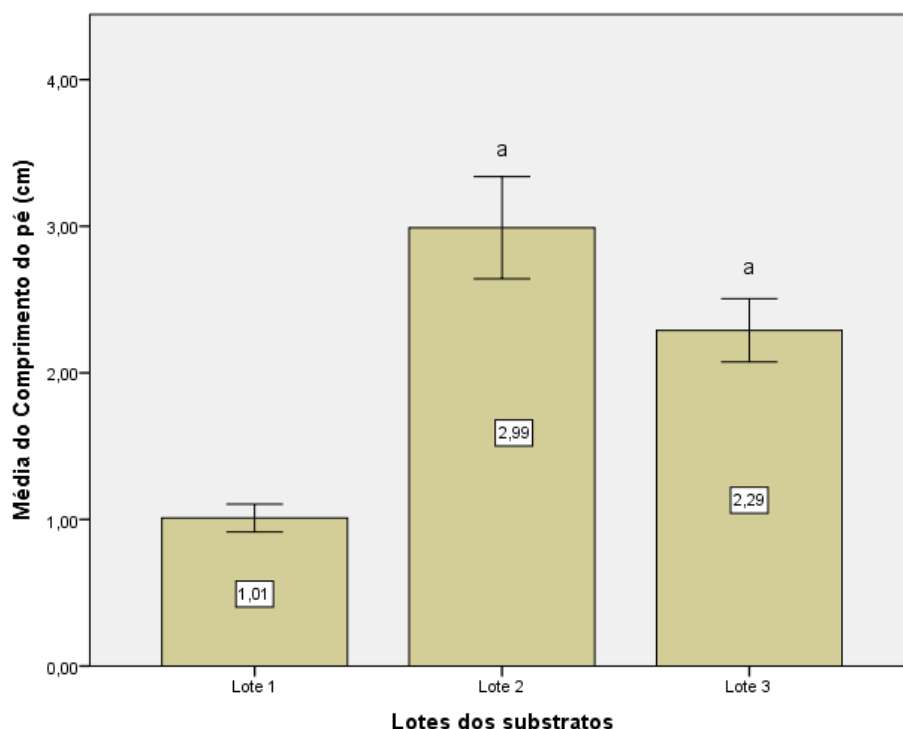


Figura 42 - Gráfico das médias do comprimento do pé (cm) dos cogumelos no 1º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I, II e III). Médias que não partilham nenhuma letra diferem significativamente ( $p < 0,01$ )

A diferença de médias dos comprimentos do pé, no primeiro fluxo, entre os Lotes I e II e III é significativa, respetivamente ( $P < 0,001$ ) e ( $P < 0,004$ ) (Anexo VII).

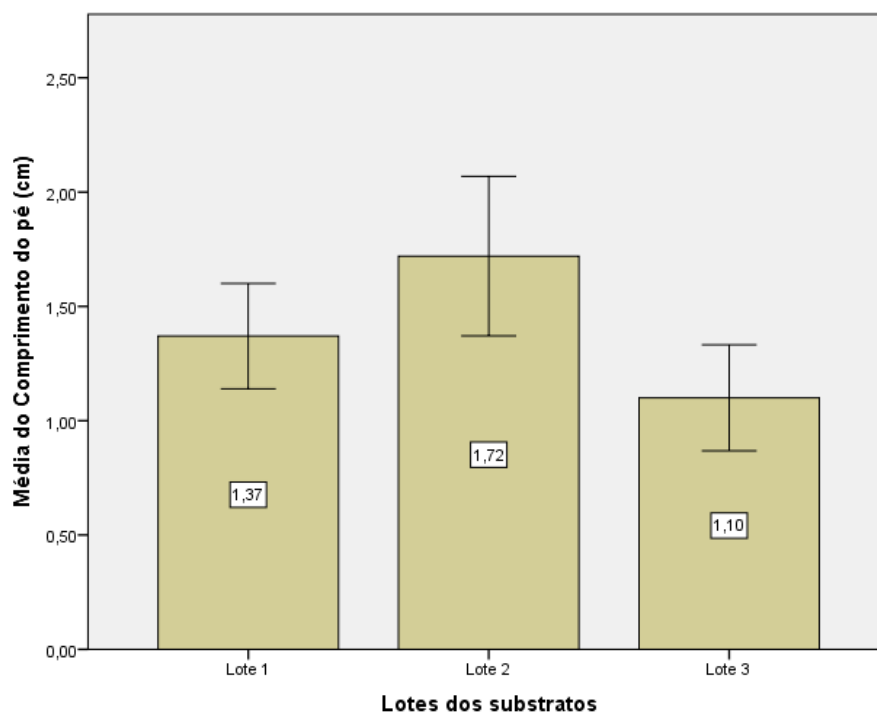


Figura 43. Gráfico das médias do comprimento do pé (cm) dos cogumelos no 2º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III). Médias que não partilham nenhuma letra diferem significativamente (n.s.) \*

No segundo fluxo o comprimento médio no Lote I foi, de novo, o mais elevado (1,72 cm) (Figura 43). No Lote I atingiu-se um valor de 1,37 cm e de 1,10 cm no Lote III. A diferença de médias dos comprimentos do pé, no segundo fluxo, não é significativa (Anexo VIII).

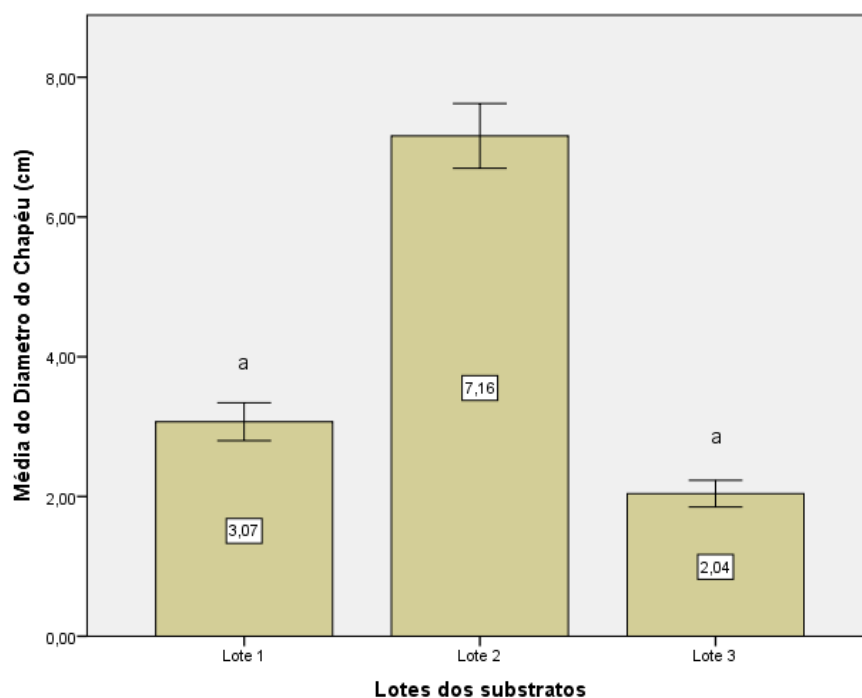


Figura 44 - Gráfico das médias do diâmetro do chapéu (cm) dos cogumelos no 1º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I, II e III). Médias que não partilham nenhuma letra diferem significativamente ( $p < 0,01$ )

No primeiro fluxo, e no que se refere ao diâmetro do chapéu (Figura 44), fundamento primeiro de toda a produção e como seria de esperar, os melhores resultados foram conseguidos no Lote II (7,16 cm), enquanto que no Lote I este valor se ficou pelos 3,07g e 2,04g no Lote III. Estas diferenças de médias são significativas entre as médias no Lotes II e as médias nos Lotes I e o Lote III ( $P < 0.001$ ) (Anexo IX).

No segundo fluxo os melhores diâmetros médios foram conseguidos, novamente, no Lote II (4,21 cm). Porém nos Lote I e III obtiveram-se valores superiores aos atingidos no primeiro fluxo, respetivamente 3,65g e 2,95g, o que representa um aumento de 18,9% no Lote I e de 30,85% no Lote III. No nível no segundo fluxo as diferenças não são significativas (figura 45) (Anexo X).

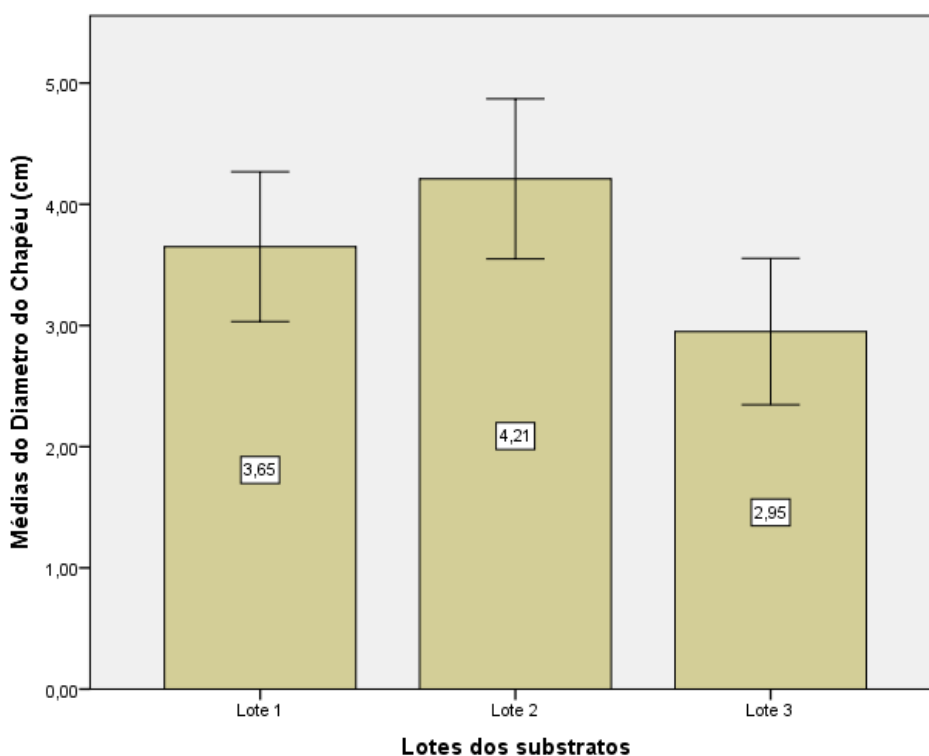


Figura 45 - Gráfico das médias do diâmetro do chapéu (cm) dos cogumelos no 2º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III). Médias que não partilham nenhuma letra diferem significativamente (n.s.) \*não significativo.

Ramos *et al.* (2011) com substratos à base de palha de trigo e cultivo em sacos, obteve chapéus com diâmetro médio de *Pleurotus ostreatus* de 5,7 cm. No caso dos *Pleurotus sajor-caju* o diâmetro médio foi de 4,9 cm e de 6,6 cm para o *Pleurotus eryngii*.

Ao analisarmos as relações entre o comprimento médio do pé e o diâmetro do chapéu, de cada lote e em cada fluxo (Figuras 46 a 51) verificamos que são altamente significativas para os Lotes I e II ( $P < 0,001$ ) (Anexos XI e XII) e não é significativa para o Lote III ( $P < 0,382$ ) (Anexo XIII)

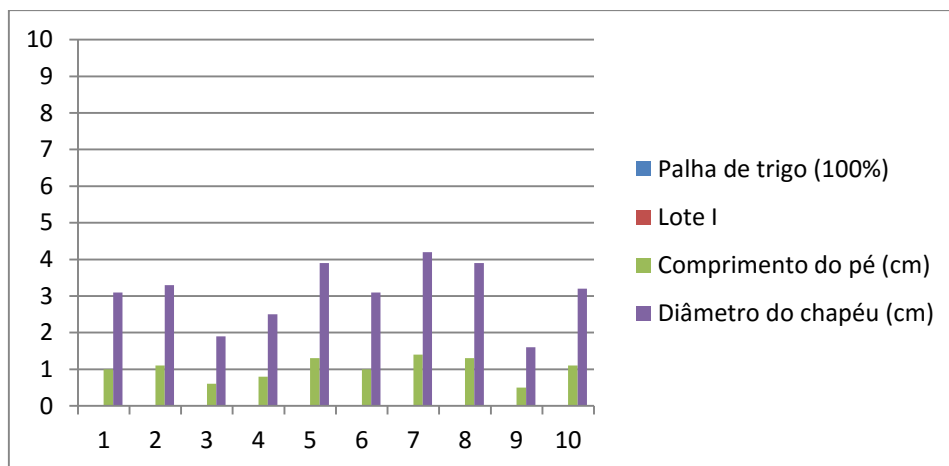


Figura 46. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote I, no 1º fluxo de produção

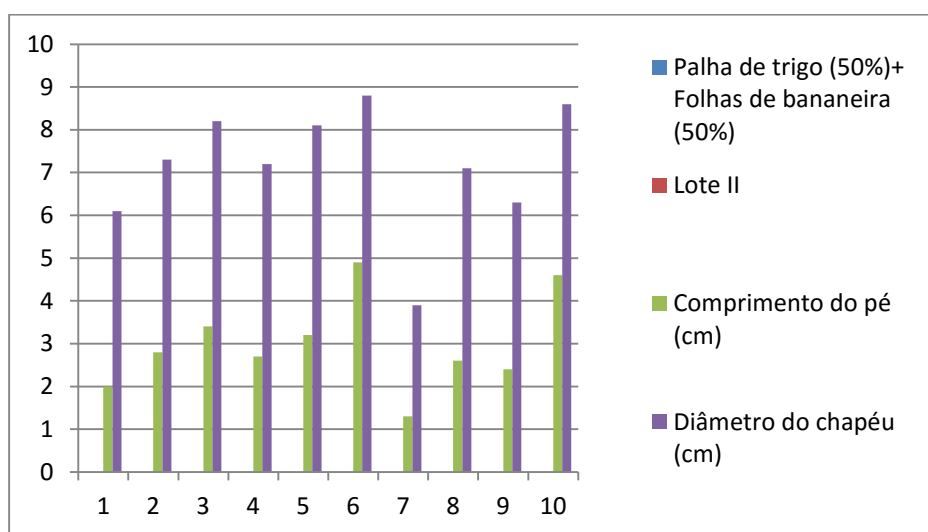


Figura 47. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote 2, no 1º fluxo de produção

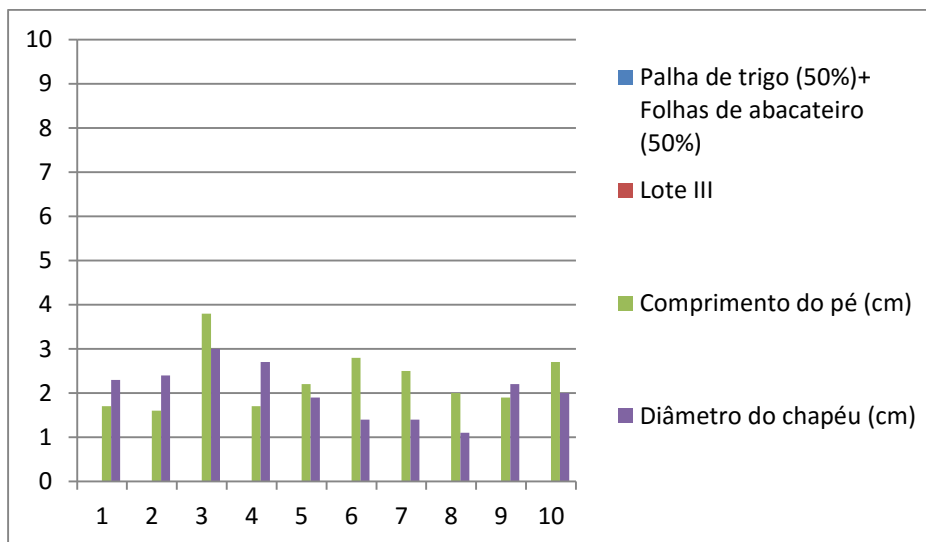


Figura 48. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote 3, no 1º fluxo de produção

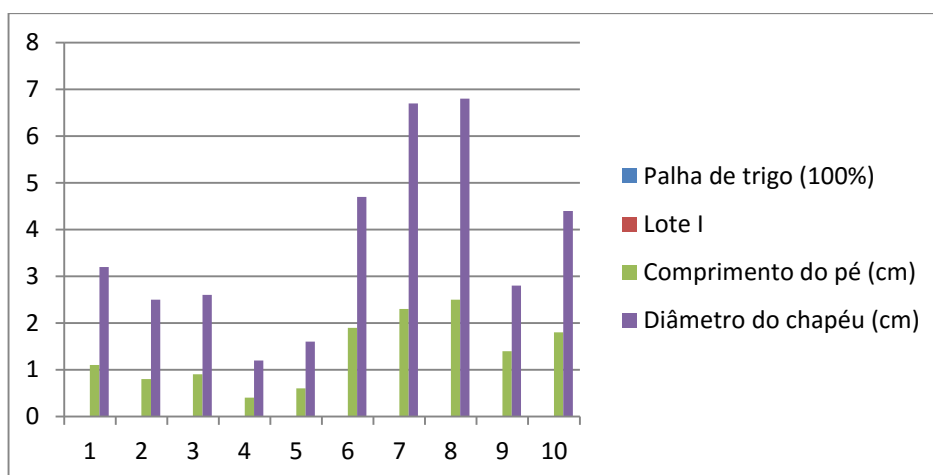


Figura 49. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote 1, no 2º fluxo de produção.

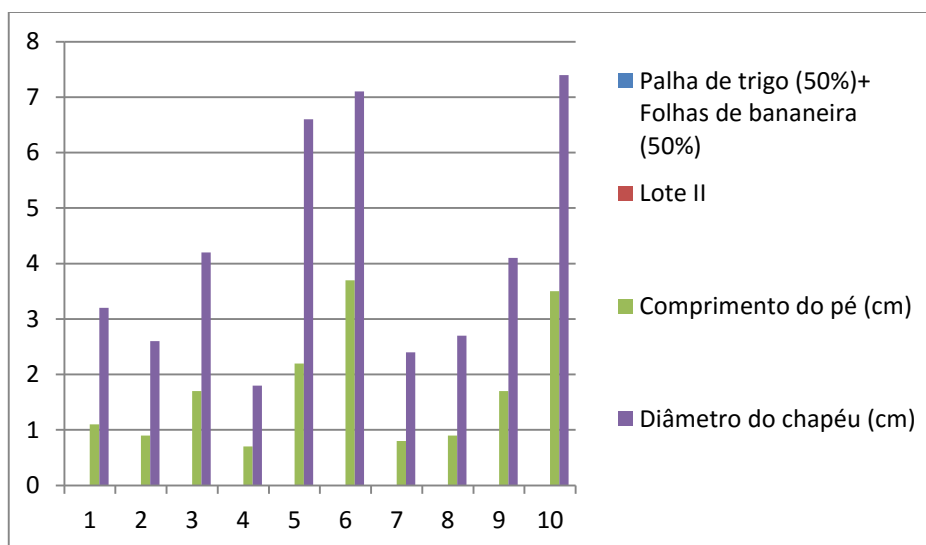


Figura 50. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote 2, no 2º fluxo de produção.

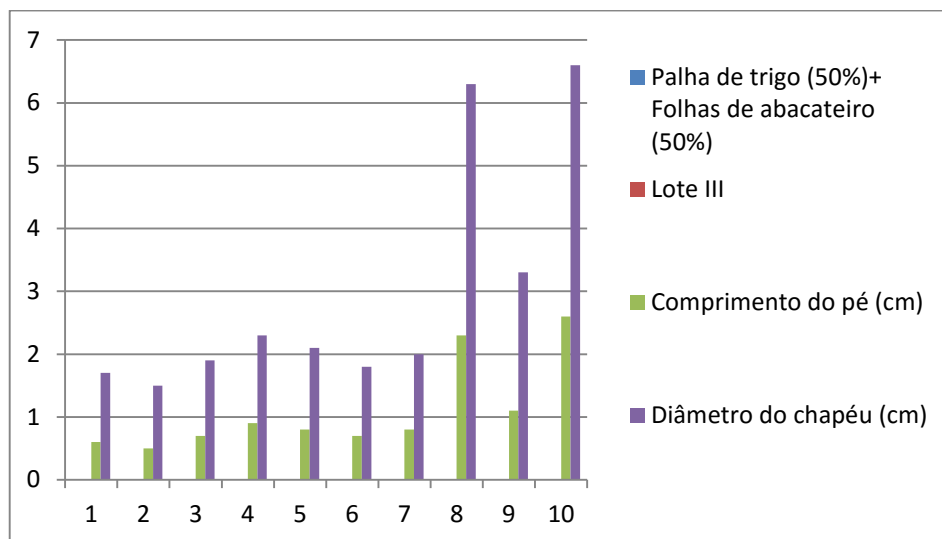


Figura 51. Relação entre o comprimento médio do pé (cm) e o diâmetro do chapéu (cm), do Lote 3, no 2º fluxo de produção.

Se analisarmos a relação entre o comprimento médio do pé, e o diâmetro médio do chapéu (Figura 52) obtemos uma regressão, altamente significativa ( $P < 0,001$ ) (Anexo XIV), entre o comprimento do pé e o diâmetro do chapéu (1ª colheita, com os dados dos 3 lotes).

**Equação da reta de regressão  $Y = 1.160 + 1.397X$**

**Coefficiente de correlação ( $R$ ) = 0.633**

**Coefficiente de determinação ( $R^2$ ) = 0.400**

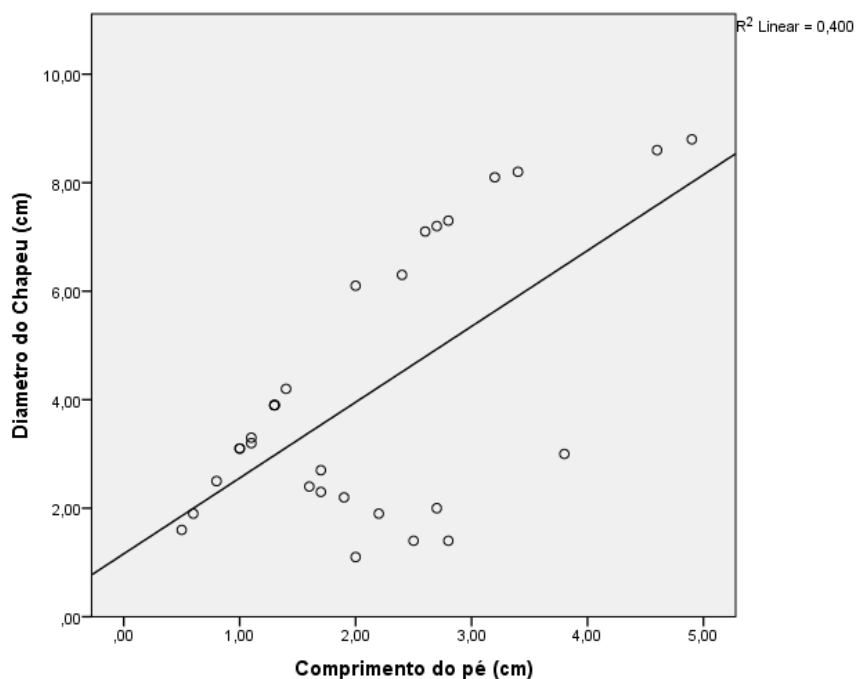


Figura 52. Regressão linear entre o diâmetro médio do chapéu e o comprimento médio do pé.

Se analisarmos, ainda, a relação entre o comprimento médio do pé, e o diâmetro médio do chapéu (Figura 53) obtemos uma regressão, altamente significativa ( $P < 0,001$ ) (Anexo XIV), entre o comprimento do pé e o diâmetro do chapéu (2ª colheita, com os dados dos 3 lotes).

**Equação da reta de regressão  $Y = 0.572 \times 2.17X$**

**Coefficiente de correlação ( $R$ ) = 0.962**

**Coefficiente de determinação ( $R^2$ ) = 0.925**

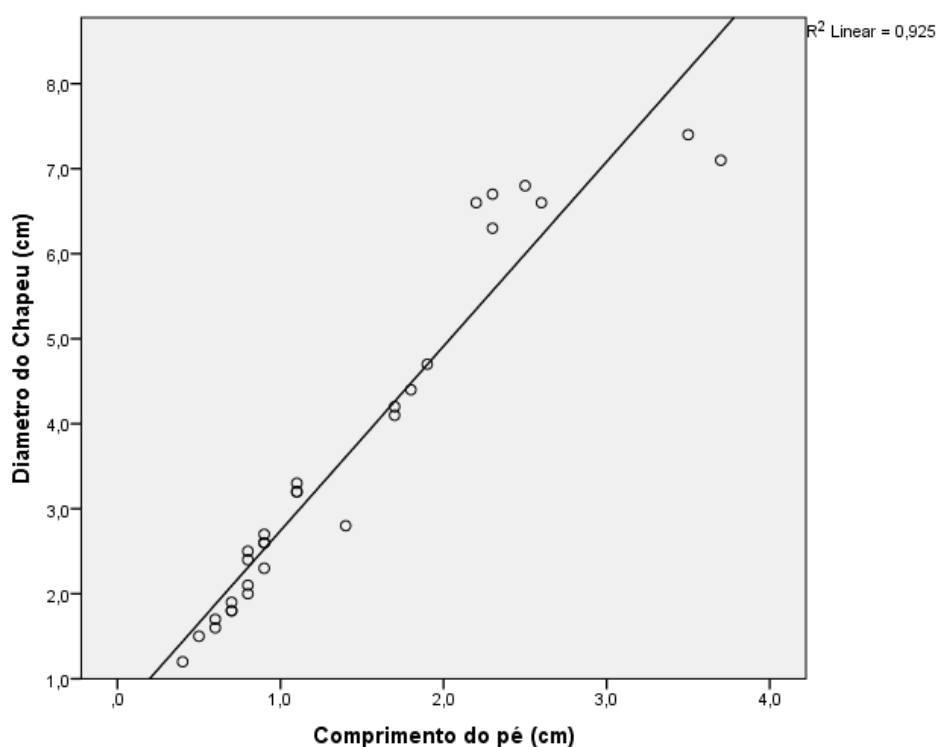


Figura 53. Regressão linear entre o diâmetro médio do chapéu e o comprimento médio do pé.

### 3.5. Análises Químicas

Segundo Sturion (1994) os resíduos da bananeira representam uma proporção equivalente a 40% do peso do fruto e as folhas representam 15 % da planta completa. De acordo com a mesma autora, a palha das folhas de bananeira apresenta relação C/N de 25:1, teor de proteína de 9,38%, teor de fibra bruta de 32,3%, com índices de lignina de 15,37%, de celulose de 34,13% e de hemicelulose de 20,1%.

Tabela: 7. Dados analíticos do substrato dos diferentes lotes.(Moreira, 2012)

Amostra	M. Seca %	Em 100g de M.S.					
		PB	NDF	ADF	ADL	E.E.	Cinza
Lote 1	41,13	2,55	81,07	65,56	11,91	0,60	11,46
Lote 2	32,03	5,27	75,04	64,83	17,79	0,88	11,92
Lote 3	32,45	4,43	73,37	52,57	14,57	0,58	11,07

Tabela 8. Valores de celulose, hemicelulose e lenhina nos diferentes lotes.(feito pelo autor)

Lotes	Em 100g de M. S.		
	Celulose	Hemicelulose	Lenhina
Lote 1	53,65	15,51	11,91
Lote 2	47,04	10,21	17,79
Lote 3	38,00	20,80	14,57

Kerstetter & Lyons, (200) referem, para a composição química da palha de trigo, em termos médios, 33 a 42% de celulose, 25 a 32% de hemicelulose, 16 a 23% de lenhina, valores estes algo distantes dos resultados obtidos. Porém, Borba (1982) (Tabela 9) menciona valores bem mais próximos dos nossos. De fato, este investigador ao trabalhar com palhas de trigo portuguesa encontrou valores de lenhina de 8,8%, de 41, 2 para a celulose e de 23,6% de hemicelulose em relação a Matéria Seca.

Tabela 9. Composição química e digestibilidade da palha de trigo (Borba, 1982)

%	em 100 g de MS										EB	DMS
	PB	SES	FB	ENA	Cinza	Açu	Am	NDF	ADF	ADL		
MS											KJ	(%)
86.2	3.1	0.9	39.2	50.9	5.8	4.9	2.7	73.9	50.3	8.8	1774.6	36.2

Como se pode constatar a inclusão de folhas de bananeira no substrato (Lote 2) fez diminuir a celulose e a hemicelulose, mas aumentou a percentagem de lenhina. Além disso aumenta substancialmente a proteína bruta fornecendo, assim, uma fonte de azoto aos cogumelos.

A inclusão de folhas de abacateiro no substrato (lote 3) provoca um aumento da proteína bruta menos acentuado e uma menor percentagem de celulose em relação á hemicelulose na parede celular.



Tabela 10. Dados analíticos do cogumelo *Pleurotus ostreatus* cultivados em substrato de trigo (Lote 1)

Amostra	M. Seca %	Em 100g de M.S.					
		PB	NDF	ADF	ADL	E.E.	Cinza
Lote 1	6,36	22,79	56,43	1,57	7,97	6,36	22,79

Os dados de Proteína Bruta por nós obtidos (22,79%) são superiores aos referenciados por Kalac (2013) (13,23%). No que concerne à % M.S. encontramos valores um pouco inferiores.

Em termos de gordura (E.E.), o valor por nós determinado é ligeiramente superior ao mencionado por Kalac (2013). Por sua vez, os hidratos de carbono (48,06%) são inferiores aos citados pelo mesmo investigador (75,11%).

Tabela 11. Composição química de cogumelos (adaptado de Kalac, 2013)

Espécies	% MS	Em 100g de M.S.			
		PB	EE	Hidratos de Carbono	Cinza Bruta
<i>Pleurotus ostreatus</i>	8,66	13,23	3,58	75,11	8,08
<i>Boletus aereus</i>	8,35	17,86	4,4	72,83	8,87
<i>Lycoperdon echinatum</i>	14,76	23,52	1,22	65,83	9,48
<i>Suillus mediterraneensis</i>	8,80	24,32	2,61	45,43	27,64
<i>Agaricus</i>	11,83	18,57	1,10	58,16	23,16

## 4.CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com este trabalho pretendemos estudar a viabilidade de produção em pequena escala de cogumelos *Pleurotus ostreatus*.

A produção de cogumelos é uma atividade emergente ao nível das pequenas e micro-indústrias. Foi assim que na Índia, com o suporte do Professor Muhammad Yunus, Prémio Nobel da Paz em 2006, muitas das regiões mais remotas iniciaram este processo empresarial. Iniciaram a sua produção com o suporte da palha de arroz, tendo posteriormente introduzido, como novo substrato, a palha de trigo.

Num sistema de produção de cogumelos um dos primeiros elementos a ter em conta é, sem dúvida, a obtenção de matéria de prima, de baixo custo, e com grande eficiência energética.

Como substrato estudamos três alternativas (Lotes): Lote I (palha de trigo); Lote II (50% de palha de trigo e 50% de folhas de bananeiras) e Lote III (50% de palha de trigo e 50% de folhas de abacateiro) e, como espécie, o *Pleurotus ostreatus*.

Os melhores resultados, ao nível da produção, conseguiram-se, no primeiro fluxo, no Lote II (substrato de palha de trigo com folhas de bananeiras) (13,32 g), ao passo que tal valor foi de 10,55 g nos substratos à base de palha de trigo (Lote I) e de 11,09 g no substrato com palha e folhas de abacateiros (Lote III). De fato existem diferenças evidentes de produção, sendo as mesmas significativas quando se comparam as produções conseguidas nos Lotes I e II ( $P < 0,002$ ) e entre os Lotes II e III ( $P < 0,015$ ).

No segundo fluxo as produções foram inferiores. Porém foi, novamente, no Lote II que se conseguiram os melhores resultados médios (6,62 g), uma vez que no Lote I somente se conseguiram 6,14 g e no Lote III este valor caiu, ainda, para 5,00 g. Este valor é tão mais importante ao verificar-se que representa um acréscimo de 7,25% do que a produção atingida no Lote I (6,14 g) e de 24,47% em relação à produção obtida no Lote III.

Tal como se observou em relação ao peso médio de cogumelos conseguidos nos diferentes Lotes, a melhor eficiência biológica, no primeiro fluxo, foi obtida no Lote II (26,00%), existindo diferenças significativas entre este valor e as produções atingidas nos Lotes I (20,6%) e Lote III (21,67%).

No segundo fluxo, a melhor eficiência biológica foi obtida, à semelhança do que se obteve para o primeiro, no Lote II (12,90%), existindo diferenças significativas entre este valor e eficiência biológica atingidas nos Lotes III (9,8%) o que não se verifica entre as eficiências nos Lotes I e II.

Como se pode constatar, a eficiência biológica foi bem menor no segundo fluxo, atingindo-se valores em média inferiores em cerca de 50%.

Existem diferenças significativas no tamanho do pé entre o Lotes I (1.01 cm) e os Lotes II (2,99 cm) e III (2.29 cm). A diferença de médias dos comprimentos do pé, no primeiro fluxo, entre os Lotes I e II e III é significativa, respectivamente ( $P < 0,001$ ) e ( $P < 0,004$ ).

No segundo fluxo o comprimento médio no Lote I foi, de novo, o mais elevado (1.72 cm). No Lote I atingiu-se um valor de 1,37 cm e de 1,10 cm no Lote III.

No primeiro fluxo, e no que se refere ao diâmetro do chapéu, fundamento primeiro de toda a produção e como seria de esperar, os melhores resultados foram conseguidos no Lote II (7,16 cm), enquanto que no Lote I este valor se ficou pelos 3,07g e 2.04g no Lote III. Estas diferenças de médias são significativas entre as médias no Lotes II e as médias nos Lotes I e o Lote III ( $P < 0.001$ ).

A inclusão de folhas de bananeira no substrato (Lote 2) fez diminuir a celulose e a hemicelulose, mas aumentou a percentagem de lenhina. Além disso aumenta substancialmente a proteína bruta fornecendo, assim, uma fonte de azoto aos cogumelos.

A inclusão de folhas de abacateiro no substrato (lote 3) provoca um aumento da proteína bruta menos acentuado e uma menor percentagem de celulose em relação á hemicelulose na parede celular.

Em termos de conclusão, poderemos afirmar que os melhores resultados foram obtidos com o substrato à base de palha de trigo (50%) e folhas de bananeira (50%).

Obviamente que este estudo ficaria muito mais completo se, para além da produção, tivéssemos dado mais importância ao processo de elaboração dos substratos, incluindo a composição química, mas esse não era o objetivo de base, pois o tempo a que nos propúnhamos desenvolver o trabalho era, nos termos do regulamento de estágio, reduzido (somente um semestre).

Em termos de trabalhos futuros, e já em desenvolvimento, estamos a testar uma nova formulação de substrato à base de palha de trigo e outros produtos vegetais existentes na região e que, em algumas das situações, são espécies invasoras.

Outros trabalhos a realizar posteriormente prendem-se com o estudo das hipóteses de se utilizarem, após a colheita, os substratos quer na alimentação animal, quer como fertilizantes.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamović, M., Grubić, G., Milenković, I., Jovanović, R., Protić, R., Sretenović, L., & Stoićević, L. 1998. The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding. *Animal Feed Science and Technology*, 71(3), 357-362.
- Adebayo, E. A., & Martinez-Carrera, D. 2015. Oyster mushrooms (*Pleurotus*) are useful for utilizing lignocellulosic biomass. *African Journal of Biotechnology*, 14(1), 52-67.
- Ajith, T. A., & Janardhanan, K. K. 2007. Indian medicinal mushrooms as a source of antioxidant and antitumor agents. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 40(3), 157-162.
- Alanbeh, K. M., Bouqellah, N. A., & Al Kaff, N. S. 2014. Cultivation of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* on date-palm leaves mixed with other agro-wastes in Saudi Arabia. *Saudi journal of biological sciences*, 21(6), 616-625.
- Alexandrino, E. de Miranda Gomide, C. A., & Gomide, J. A., 2007. Características estruturais e produção de forragem em pastos de capim-mombaça submetidos a períodos de descanso. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(10), 1487-1494.
- Alexopoulos, C. J.; Mins, W.C.; Blackwell, M. 1996 *Introductory Mycology*. – 4th. Ed. New York: Jhon Winley & Sons. Inc, 1996. 869 p.
- Andrade, M. C. N., 2007. Crescimento micelial, produção e características bromatológicas do shiitake em função de linhagens e de propriedades físicas e químicas de espécies e clones de eucalipto. Botucatu, 195 p. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista. UNESP.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists (1990). *Official Methods of Analysis*. Washington, DC, USA.
- Apati, G, 2004. Secagem e Resfriamento a vácuo de cogumelos comestíveis das espécies *Pleurotus ostreatus*. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina. Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Tese de Mestrado.
- Apontamentos do Mestrado de Tecnologia e Segurança Alimentar (MTSA). 2014. Disciplinas: Higiene e Segurança Alimentar e Gestão da Qualidade. Profª Lurdes Enes Dapkevicius.
- Astudillo, Y. I. H., 2007 – Obtención de cepas híbridas de *Pleurotus ostreatus* spp. Apareamiento de neohaplontes compatibles. México: Instituto Nacional Unidad Profesional Interdisciplinaria de biotecnología. Tese de Mestrado.
- Azevedo, S.; Cunha, L.M; Fonseca, S.C., 2012 - Hortifruticultura & Floricultura: Importância da utilização de cogumelos na alimentação humana. *Agrotec, revista técnico-científica agrícola* n°2, 48-50 p. ISSN: 2182-4401.
- Bano, Z., Rajarathnam, S., Nagaraja, N., 1987. Some important studies on *Pleurotus* mushroom technology. In: Kaul, T.N., Kapur, B.M. (Eds.), *Proceedings of the International conference on science and cultivation technology of edible fungi*. Regional Research Laboratory, Jammu Tawi, India, pp. 53–64.

Bano, Z., Shashirekha, M. N., & Rajarathnam, S. 1993. Improvement of the bioconversion and biotransformation efficiencies of the oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) by supplementation of its rice straw substrate with oil seed cakes. *Enzyme and Microbial Technology*, 15(11), 985-989.

Baptista, P.; Saraiva, J.; 2003. "Higiene Pessoal na Indústria Alimentar"; Forvisão – Consultoria em formação integrada.

Baptista, P. 2003. "Higienização de equipamentos e instalações na indústria agro-alimentar." *Guimarães: Forvisão*.

Baptista, P., Christine Antunes, C., 2005. "Higiene e Segurança Alimentar na Restauração –Volume II– Avançado." *Forvisão – Consultoria em Formação Integrada*.

Baptista, P.; Saraiva, J.; 2003. "Higiene Pessoal na Indústria Alimentar"; *Forvisão – Consultoria em formação integrada*.

Bakry, F.; Carrel, F.; Caruana, M. L.; Cote, F. X.; Jenny, C.; Tezenas, D. H. 1997. Les Bananiers. Amelioration des Plantes Tropicales. CIRAD-ORSTOM. p. 109– 139.

Barbado, J. L. 2003. Hongos comestibles. 1ª Edição. Buenos Aires: Albatros. ISBN 950- 25-1034 -3.

Barros, L.; Dueñas, M.; Ferreira, I.C.F.R.; Baptista, P.; Santos-Buelga, C. 2009 - Phenolic acids determination by HPLC–DAD–ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species. *Food and Chemical Toxicology*. 47, 6 , 1076-1079.

Barros, L.; Cruz T., Baptista P., Estevinho L.M., & Ferreira I.C.F.R. - Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food Chemical and Toxicology*. 46, (2008a), 2742–2747.

Barros, L.; Baptista, P.; Correia, D.M.; Casal, S.; Oliveira, B.; Ferreira, I.C.F.R. , 2007a, - Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chemistry*. 105, 140-145.

Barros L.; Baptista P.; Correia, D.M.; Morais, J.S.; Ferreira, I.C.F.R., 2007b, - Effects of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, (2007b), 4781-4788.

Barros, L. Baptista, P. Estevinho, L.M.; Ferreira, I.C.F.R. , 2007, - Effect of fruting body maturity stage on chemical composition and antimicrobial activity of *Lactarius* sp. mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, (2007c), 8766-8771.

Barwick, M. 2004. Tropical & Subtropical trees: an encyclopedia. Timber Press, Portland, Estados Unidos. 484p.

Batista, J.G.F., Batista, E.R.B. 2013. Cultura de Cogumelos: Cultura de *Pleurotus ostreatus* para principiantes. Disponível em [www.angra.uac.pt/pessoais/docentes/jbatista/cogumelos/Pleurotus.pdf](http://www.angra.uac.pt/pessoais/docentes/jbatista/cogumelos/Pleurotus.pdf) (Acedido a 05 de Setembro de 2015)

Batista, João G. F. 1999. Cultura de Shiitake (*Lentinula edodes*). Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos Açores. Angra do Heroísmo, 14 de Janeiro de 1999. Disponível em: <http://www.angra.uac.pt/pessoais/docentes/jbatista/> (Consultado a 28 de Julho de 2015).

Bezerra, L. J. D.; Sousa, E. B. C.; Dantas, M. D. O.; Silva, D. S.; Sarmiento, P. E. A.; Nascimento, G. A. J. D.; Lima Neto, R. D. C.; de Sousa, G. C. 2002. Estudo bromatológico da bananeira (*Musa spp*) e sua utilização na alimentação de bovinos 2002. Disponível em: <http://www.agronline.com.br/agrociencia/artigo/37>>. Acedido a 01 de Setembro de 2015.

Bisaria, R., Madan, M. 1983. Mushrooms: potential protein source from cellulosic residues. *Enzyme Microbiology Technology*, v. 5.

Bisaria, R., Madan, M., & Bisaria, V. S. 1987. Biological efficiency and nutritive value of *Pleurotus sajor-caju* cultivated on different agro-wastes. *Biological Wastes*, 19(4), 239-255.

Bobek, P., Ginter, E., Jurcovicova, M., & Kunia, K. 1991. Cholesterol-lowering effect of the mushroom *Pleurotus ostreatus* in hereditary hipercholesterolemic rats. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 35, 191–195.

Bonatti, M., Karnopp, P., Soares, H.M., Furlan, S.A. 2004. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry*, v. 88, p. 425-428.

Bonatti, M. 2001. *Estudo do potencial nutricional de cogumelos do gênero Pleurotus cultivados em resíduos agro-industriais*. 148f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química e de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Bononi, V.L.; Capelari, M.; Maziero, R.; Trufem, S.F.B. 1999. *Cultivo de cogumelos comestíveis*. Ícone Editora, São Paulo, 206p.

Bononi, V. L., Capelari, M., Maziero, R., & Trufem, S. F. B. 1995. *Cultivo de cogumelos comestíveis*. Ícone.

Bononi, V.L.; Trufem, S. F. B. 1986. Cogumelos Comestíveis In: Coleção Brasil Agrícola, Ícone editora 3a edição.

Borba, A.E.S. 1982. Valorização nutritiva da palha de trigo pelo tratamento com amoníaco (Relatório de Estágio de Fim de Curso). Estação Zootécnica Nacional, Vale de Santarém.

Borges, G. M.; Wisbeck, E. 2005. Aproveitamento de resíduos da cultura da banana para a produção de *Pleurotus ostreatus*, cogumelo comestível e medicinal. In: VII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu. VII Congresso de Ecologia do Brasil.

Breene, W. M. 1990. Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms. *Journal of Food Protection*, v. 53, n. 10, p. 883-894.

Bruns, T. D., White, T. J. e Taylor, J.W. 1991. *Fungal molecular systematics*. *Annual Review of Ecology and Systematics*. . 22: 525-564. 1991.

Burton, K.S. e Twynning, R.I. 1989 – Extending mushroom storage-life by combining modified atmosphere packaging and cooling. *Acta Horticulture*, 258: 565-571.

Çaglarirmak, N. 2007. The nutrients of exotic mushrooms (*Lentinula edodes* and *Pleurotus* species) and estimated approach to the volatile compounds. *Food Chemistry*, **105**, 1188-1194.

Carlile, M.J.; Watkinson, S.C.; Gooday, G.W. 2001. *The Fungi*. 2nd Edition. Hungary: Academic Press.

Carvalho, C. S. M., et al. 2013. "Cultivo in vitro de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de bananeira In vitro cultivation of *Pleurotus ostreatus* in banana tree residues." *AMBIÊNCIA* 9.3.651-660.

Carvalho, S., and L. Aguiar. 2012. "Determinação Bromatológica de *Pleurotus ostreatus* cultivado em resíduos de diferentes cultivares de bananeira." *Interciencia* 37.8 : 621-626.

Chang, S.T., & Miles P.G. 2004 - Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact – 2nd ed., U.S.A. ISBN – 0-8493-1043-1. [Acedido a 23 de Setembro de 2015]. Disponível em WWW:<URL: <http://www.amazon.com/dp/0849310431>.>

- Chang, S. T. e Miles, P. 1989. *Edible mushroom and their cultivation*. CRC Press Inc., Florida.
- Chang, S. T. 1987. World production of cultivated edible mushrooms in 1986. *Mushroom J. Tropics*, 7, 117-120.
- Chang, S.T.; Miles, P.G.1984. A new look at cultivated mushrooms. *Bio Science*, v. 34, n. 6, p. 358-362.
- Chang, S. T. & Hayes, W. 1978. The biology and cultivation of edible mushrooms. *Academic Press*, p. 810.
- Cheung, P.C.K.2008. Mushroom as functional foods. John Wiley and Sons doi: 10.1002/9780470367285.
- Chirinang, P. & Intarapichet,2009 – Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *ScienceAsia*. 35, 326-331.
- Chorover, J., & Fox, R. H. (2001). Effects of spent mushroom substrate weathering on the chemistry of underlying soils. *Journal of environmental quality*, 30(6), 2127-2134.
- Clark, A. C., Vestner, J., Barril, C., Maury, C., Prenzler, P. D., & Scollary, G. R. 2009. The influence of stereochemistry of antioxidants and flavanols on oxidation processes in a model wine system: ascorbic acid, erythorbic acid,(+)-catechin and (-)-epicatechin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(2), 1004-1011.
- Coelho, S. A. S. 2012 – Determinação expedita de amins biogénicas em cogumelos por TLC. Instituto Politécnico de Bragança: Escola Superior Agrária de Coimbra. Tese de Mestrado.
- Coli, R., Granetti, B., Damiani, P., & Fidanza, F. 1988. Composizione chimica e valore nutritivo di alcuni ceppi di *Pleurotus eryngii*, *P. nebrodensis* e *P. ostreatus* coltivati in serra. *Annali della Facoltà di Agraria, Università di Perugia*, 42, 847-859.
- Crisan, E. V.; Sands, A.1978. A nutritional value. In: Chang, S. T.; Hayes, W. A. 1978(Eds). The biology and cultivation of edible mushroom. *New York: Academic Press*, p. 137-168.
- Curvetto, N. R.; Figlas, D.; Devalis, R.; Delmastro, S. 2002. Growth and productivity of different *Pleurotus ostreatus* strains on sunflower seed hulls supplemented with N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and/or Mn (II). *Bioresource Technology*, Essex, v.84, n.2, p.171-176.
- Dalonso, N., Souza, R., Silveira, M.L.L., Ruzza, A.A., Wagner, T.M., Wisbeck, E., Furlan, S.A.2010. Characterization and antineoplastic effect of extracts obtained from *Pleurotus sajor-caju* fruiting bodies. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 160, n. 8, p. 2265–2274.
- Dias, E. S., Koshikumo, E. M. S., Schwan, R. F., & Silva, R. D. 2003. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. *Ciência e Agrotecnologia*, 27 (6), 1363-1369.
- Dias, E. S. 2010. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, v. 34, n. 4, p. 795-803, 2010.
- Donini, L.P.; Bernardi, E.; Minotto, E.; Nascimento, J.S. do. 2005. Desenvolvimento in vitro de *Pleurotus* spp. sob a influencia de diferentes substratos e dextrose. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.72, p.331-338.
- Eicker, A. 1995. The South African experience in growing *Pleurotus* spp. In: ELLIOTT, T.J. (Ed.). *Science and cultivation of edible fungi*. Rotterdam: Balkema, v.2, p.869- 875.

Eichlerová, I., Homolka, L., Nerud, F., Zadrazil, F., Baldrian, P., Gabriel, J. 2000. Screening of *Pleurotus ostreatus* isolates for their ligninolytic properties during cultivation on natural substrates. *Biodegradation*, v. 11, n. 5, p. 279-287.

Eira, A.F. , 2003. Cultivo do "cogumelo-do-sol" (*Agaricus blazei* (Murrill) ss. Heinemann.) Viçosa: Ed. Aprenda Fácil, 203p.

Elaiya Raja, R and Ganesh, P.2013. Studies on cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus florida*) on using different substrates. *Indian Streams Research Journal*, Vol. III, Issue. III, DOI : 10.9780/22307850, <http://isrj.org/UploadedData/2236.pdf>

Elisashvili, V., Penninckx, M., Kachlishvili, E., Tsiklauri, N., Metreveli, E., Kharziani, T., & Kvesitadze, G. 2008. *Lentinus edodes* and *Pleurotus* species lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solid-state fermentation of lignocellulosic wastes of different composition. *Bioresource Technology*, 99(3), 457-462.

Elmastas M, Isildak O, Turkekul I, Temur M. 2007. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *J. Food Comp. Anal.* 20: 337-345.

Eriksson, K.E.L.; Blanchette, R.A.; Ander, P. 1990. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. New York: Springer, Berlin Heidelberg.

Erjavec, J., Kos, J., Ravnikar, M., Dreo, T., Sabotič, J. 2012. Proteins of higher fungi-from forest to application. *Trends in biotechnology* 30(5):259–73. doi:10.1016/j.tibtech.2012.01.004

Fan, L., Soccol, A. T., Pandey, A., & Soccol, C. R. 2003. Cultivation of *Pleurotus* mushrooms on Brazilian coffee husk and effects of caffeine and tannic acid. *Micologia Aplicada Internacional*, 15(1), 15-21.

Ferreira, A. 1999. SPSS – Manual de utilização. Escola Superior Agrária de Castelo Branco. Castelo Branco. Portugal.

Ferreira, I.C.F.R., Barros, L., & Abreu, R.M.V. 2009. Antioxidants in wild mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, 16, 1543-1560.

Ferreira, I.C.F.R., Vaz, J.A., Vasconcelos, M.H., & Martins, A. 2010. Compounds from wild mushrooms with antitumor potential. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 10, 424-436.

Figueiró, G. G., Gracioli, L.A., 2011. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras* 35.5: 924-930.

Figueiró, G. G. (2009). Influência do substrato no cultivo e na composição química do cogumelo *Pleurotus florida*. 69-f.

Freer, S. N., and R. W. Detroy., 1982. Biological Delignification of empty<sup>14</sup>C-Labeled Lignocelluloses by Basidiomycetes: Degradation and Solubilization of the Lignin and Cellulose Components. *Mycologia*. 943-951.

Freitas, A. C. P. M., 2013. Cogumelos e seus efeitos terapêuticos. Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto.

Fu, S. Y., Yu, H. & Buswell, J. A. 1997. Effect of nutrient nitrogen and manganese on manganese peroxidase and laccase production by *Pleurotus sajor-caju*. *FEBS Lett* 147, 133–137.



- Furlani, RPZ; Godoy, HT.,2005. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 64 (2):149-154.
- Furlani, R & Godoy, H.2007. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. *Ciência Tecnologia. Aliment. Campinas*, 27 (1): 154-157.
- Gbolagade, J., Ajayi, A., Oku, I., & Wankasi, D.2006. Nutritive value of common wild edible mushrooms from southern Nigeria. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*,1(1), 16-21.
- Gençcelep, H.; Uzun, Y.; Tunçtürk, Y.; Demirel, K. 2009 - Determination of mineral contents of wild-grown edible mushrooms. *Food Chemistry*. v. 113, 1033-1036.
- Gern, R. M. M.; Wisbeck, E.; Rampinelli, J.; Ninow, J.L.; Furlan, S. A.,2008. Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 76-82.
- Ghosh, M., Mukherjee, R., & Nandi, B. 1998. Production of extracellular enzymes by two *Pleurotus* species using banana pseudostem biomass. *Acta Biotechnologica*, 18(3), 243-254.
- Goering, H.K.; Van Soest, P.J. (1970). Forage fiber analyses. *Agricultural Handbook n°379*, Washington, DC, USA.
- Gormley, R. 1975 – Chill storage of mushrooms. *J. Sci. Fd Agric.*, 2: 401-411.
- Goswami, V., Sharma, S., Sehgal, S.P., 1987. Possibilities of cultivation of *Pleurotus sajor caju* (Fr.) Singer on agricultural waste in Rajasthan. In: Kaul, T.N., Kapur, B.M. (Eds.), *Proceedings of the International conference on science and cultivation technology of edible fungi*. Regional Research Laboratory, Jammu Tawi, India, pp. 75 – 77.
- Grangeia, C., Heleno, S.A., Barros, L., Martins, A., & Ferreira, I.C.F.R. 2011. Effects of trophism on nutritional and nutraceutical potential of wild edible mushrooms. *Food Research International*, 44, 1029-1035.
- Gunde-Cimerman, N., & Cimerman, A. 1995. *Pleurotus* fruiting bodies contain the inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase—lovastatin. *Experimental mycology*, 19(1), 1-6.
- Helm, C.; Corandin, J.; Kestring, D. 2009 - Avaliação da Composição Química do Cogumelos Comestíveis *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Agaricus bisporus portobello*, *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus*. Colombo: Embrapa Florestas. ISSN 1517-5030.
- Heleno, S.A., Barros, L., Sousa, M.J., Martins, A., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I.C.F.R.2011. Targeted metabolites analysis in wild *Boletus* species. *Food Research International*, 44, 1343-1348.
- Heleno, S.A.; Barros, L.; Sousa, M.J.; Martins, A.; Ferreira, I.C.F.R.2009- Study and characterization of selected nutrients in wild mushrooms from Portugal by gas chromatography and high performance liquid chromatography. *Microchemical Journal*. 93, 195-199.
- Holtz, M., Borges, G.M., Furlan, S.A., Wisbeck, E. 2009. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* utilizando resíduos de algodão da indústria têxtil. *Revista de Ciências Ambientais*, v.3, n.1, p. 37 a 51.
- ISCTE. 2014. Departamento de Métodos Quantitativos. Estatística II (Teste de Apoio das Aulas). Teste de Hipótese para Mais de Duas Amostras. One-Way ANOVA (ou análise de variância a um factor).

Israilides C, Kletsas D, Arapoglou A, Philippoussis H, Pratsinis H, Ebringerova A, Hribalova V, Harding SE 2008. In vitro cytostatic and immunomodulatory properties of the medicinal mushroom *Lentinula edodes*. *Phytomedicine* 15:512-519.

Jasinghe, V.J. & Perera, C.O. 2005 - Distribution of ergosterol in different tissues of mushrooms and its effect on the conversion of ergosterol to vitamin D2 by UV irradiation. *Food Chemistry*. 92, 541–546.

Jaworska, G. & Bernas, E. 2009- Qualitative changes in *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. mushrooms resulting from different methods of preliminary processing and periods of frozen storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 89, 1066 –107.

Jayakumar, T.; Thomas P.A.; Geraldine P.2009. *In vitro* antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10, 2, 228-34

Jose, N., Janardhanan, K.K.2001. Antioxidant and antitumour activity of *Pleurotus florida*. *Current Science*, v. 79, n.7, p. 941-943.

John, F.; Monsalve, G. Medina, P. I. V, Ruiz, C.A.A. 2006. Ethanol production of banana Shell and cassava starch. *Dyna Universidad Nacional de Colombia, Medellin*, v.73, p.21-27.

Jönsson, L., Alriksson, B., Nilvebrant, N.O. (2013) Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification. *Biotechnology for biofuels* 6:16 doi: 10.1186/1754-6834-6-16

Junior,N.L.; Patrício,G.B.; Gern,R.M.M. ;Wisbeck; Furlan,S.A..2006 Cultivo integrado dos cogumelos do gênero *Pleurotus ostreatus* e *Agaricus blazei*. In: *11 Seminário de iniciação científica*, Joinville. Caderno de Iniciação à Pesquisa. Joinville: editora da Univille, v. 8.

Justo, M.B., Alanís Guzmán, M. G., González de Mejía, E., & García Díaz, C. L. 1998. Composición química de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*). *Arch. latinoam. nutr*, 48(4), 359-63.

Kalac., P. 2013 - A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93, 209–218.

Kalac, P. 2009. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chemistry*, 113, 9-16.

Karacsonyi S, Kuniak L. 1994. Polysaccharides of *Pleurotus ostreatus*: isolation and structure of pleuran, an alkali-insoluble beta-D-glucan. *Carbohydr Polym* 24:107-111.

Kerstetter, J. D., & Lyons, J. K. 2001. *Wheat straw for ethanol production in Washington: a resource, technical, and economic assessment*. Washington State University, Cooperative Extension Energy Program.

Kiehl, J. E. 1985. *Fertilizantes orgânicos*. Piracicaba: Agronômica Ceres, 492p.

Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A 2008. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi (10th ed.). CAB International, Wallingford.UK.

Kirk, P.M Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A.. 2001. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. (9th ed). CAB International, Wallingford, UK. 2001.

Kitzberger CSG, Smânia AJR., Pedrosa RC, Ferreira SRS 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. *J. Food Eng*. 80:631-638.

La Guardia, M., Venturella, G., & Venturella, F. 2005. On the chemical composition and nutritional value of *Pleurotus taxa* growing on umbelliferous plants (Apiaceae). *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(15), 5997-6002.

Leal, A. R., Barros, L., Barreira, J. C. M., Sousa, M. J., Martins, A., Santos-Buelga, C. & Ferreira, I. C. F. R. 2013. Portuguese wild mushrooms at the pharma nutrition interface: Nutritional characterization and antioxidant properties. *Food Research International*, 50, 1-9.

Li, Z. et al., 2001- Analysis of fatty acids in mouse cells using reversed-phase highperformance liquid chromatography. *Chromatographia*. 54, 463-467.

Lin, S. Y. e Dence, C. W. , 1992 *Methods in lignin chemistry*. Germany: Springer-Verlag.

Lindequist, U., Niedermeyer, T.H.J.; Julich, W.D. 2005. The pharmacological potential of mushrooms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2, 285-299.

Litchenberg LA., Hinz RH. 1997. Banana: Tratos culturais. Boletim Informativo SBF – Sociedade Brasileira de Fruticultura. Ano XVI. n. 2. Ly, J. 2004. Bananas y plátanos para alimentar cerdos: Aspectos de la composición química y de su palatabilidad. *Rev. Computadorizada de Producción Porcina* 11:5

Ly, J. 2004. Bananas y plátanos para alimentar cerdos: Aspectos de la composición química y de su palatabilidad. *Rev. Computadorizada de Producción Porcina* 11:5.

Magalhães, A. S. M. 2009. Estudo do efeito protector da espécie *Cydonia oblonga miller* na danificação oxidativa em eritrócitos humanos. Porto: Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde. Tese de Licenciatura em Ciências Farmacêuticas.

Maher, M.J., Smyth, S., Dodd, V.A., McCabe, T., Magette, W.L., Duggan, J. and Hennerty, M.J. 2000. *Managing Spent Mushroom Compost*, Teagasc, Dublin, p 1-4.

Malherbe, S. Cloete, T. E. 2002. Lignocellulose biodegradation: fundamentals and applications. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, Holland, v.1, n.2, p.105-114, 2002.

Mandeel, Q.A., Al-Laith, A. A., Mohamed, S.A. 2005. Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 21(4):601-607. doi: 10.1007/s11274-004-3494-4.

Manica, I. 1997. Fruticultura tropical 4: banana. Porto Alegre: Cinco Continentes, 1997. 485 p.

Mantovani, M.S.; Bellini, M.F.; Angelini, J.P.F.; Oliveira, R.J.; Silva, A.F.; Ribeiro, L.R..2008 - B-Glucans in promoting health: Prevention against mutation and cancer. *Mutation Research*. 658,154-161.

Manzi P., Aguzzi A., Pizzoferrato L. 2001: Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry*, 73: 321–325.

Manzi, P.; Gambelli, L.; Marconi, S.; Vivanti, V.; Pizzoferrato, L. 1999- Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study. *Food Chemistry*. 65, 4, 477-482.

Marino, R. H., ABREU, L. D., Mesquita, J. B., & Ribeiro, G. T. (2008). Crescimento e cultivo de diferentes isolados de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: fr.) Kummer em serragem da casca de coco. *Arq. Inst. Biol*, 75(1), 29-36.

Marquez-Rocha, F.J., Rodriguez, V.Z.H., Duhalt, R.V. 2000. Biodegradation of soil-adsorbed polycyclic aromatic hydrocarbons by White-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Biotechnology Letters*, v. 22, p. 469-472.

- Martinez, A. T.; Camarero, S.; Gutierrez, A.; Bocchini, P.; Galletti, G. C., 2001. Studies on wheat lignin degradation by *Pleurotus* species using analytical pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, v. 58, 401-411.
- Martins, X.F. 2004 - Cogumelos – Patrimônio Natural Transmontano. Vol. 1. Portugal, João Azevedo Editor. 19-101.
- Maziero, R. 1990. Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus* sp. (Dissertação de Mestrado), Instituto de Biociências da USP.
- Mckendry, P. 2002. Energy production from biomass: overview of biomass. *Bioresource Technology*, Essex, v.83, p.37-43.
- Medina, J. C. 1990. Banana: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. Campinas: ITAL, 131p.
- Miles, P.G.; Chang, S T. 1997. *Mushroom Biology: Concise Basics and Current Developments*. Singapore: World Scientific Press.
- Moda, E.M.; Horii, J.; Spoto, M.H.F. 2005. Edible mushroom *Pleurotus sajor caju* production on washed and supplemented sugarcane bagasse. *Science Agriculture*. 62, 2 (2005), 127-132.
- Molena, O. 1986 *O Moderno Cultivo de Cogumelos*. Nobel. São Paulo, Brasil. 170 pp.
- Moradali MF, Mostafavi H, Ghods S, Hedjaroude G. 2007. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). *Int. Immunopharmacol*. 7: 701-724.
- Moreira, J. C. H., 2012. Agentes fitoquímicos da *Persea Americana Mill.* e seu potencial contributo na dermocosmética. Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde. Porto. 61 p.
- Moreira, R., Costa, L., Costa. R. & Rocha, E. 2002. Abordagem Etnobotânica acerca do Uso de Plantas Medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. *Acta Farmaceutica Bonaerense*. 21 (3): 205-11.
- Motato, K.E.; Mejía, A.; León, A. 2006. Evaluación de los residuos agroindustriales de plátano (*Musa paradisíaca*) y aserrín de abarco (*Cariniana piriformes*) como sustratos para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor*. *Vitae*, v.13, n.1, p.24-29.
- Moura, P. 2008 Determinação de elementos essenciais e tóxicos em cogumelos comestíveis por análise por ativação de nêutrons. São Paulo: Autarquia associada à Universidade de São Paulo. Tese de Mestrado.
- Nicolas, R. e Hammond, J.B.W., 1974. Investigations on storage of prepackage mushrooms. *Mushroom J.*, 24: 1-7.
- Nkakyekorera, F. N. 1993 Mushroom Biotechnology in Uganda. In: *The Symposium on Biotechnology and Bioconversion in Africa*. December.
- Oei, P. and Nieuwenhuijzen, B.V., 2006. O cultivo de cogumelos em pequena escala: pleuroto, shiitake e orelha-de-pau. *Agrodok40*. Fundação Agromisa e CTA.
- Olivera, D.F., Vina, S.Z., Marani, C. M., Ferreyra, R.M., Mugridge, A., Chaves, A.R., & Mascheroni, R.H. 2008. Effect of blanching on the quality of brussels sprouts (*Brassica oleracea* L. Gemmifera dc) after frozen storage. *Journal of Food Engineering*, 84 (1), 148-155.

Oliveira, I. V.M., Costa, R. S., Môro, F. V., Martins, A. B. G., & Da Silva, R. R. S. 2010. Caracterização morfológica do fruto, da semente e desenvolvimento pós-seminal do abacateiro. *Comunicata Scientiae*, 1(1), 69.

Oliveira, M.A., Donega, M.A., Peralta, R.M., Souza, C.G.M. 2007. Produção de inóculo de cogumelo comestível *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quélet – CCB19 a partir de resíduos da agroindústria. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, p. 84-87.

Ouzouni, P. K., Petridis, D., Koller, W. D., & Riganakos, K. A. 2009. Nutritional value and metal content of wild edible mushrooms collected from West Macedonia and Epirus, Greece. *Food Chemistry*, 115(4), 1575-1580.

Pant, S.K., Bhatt, J.C., Harsh, N.S.K., 1987. A suitable Substrate for cultivation of *Pleurotus ostreatus*. In: Kaul, T.N., Kapur, B.M. (Eds.), Proceedings of the International conference on science and cultivation technology of edible fungi. Regional Research Laboratory, Jammu Tawi, India, pp. 70–71.

Patil, S. S., Ahmed, S. A., Telang, S. M., & Baig, M. M. V. 2010. The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm cultivated on different lignocellulosic agrowastes. *Innovative Romanian food biotechnology*, 7, 66-76.

Patrabansh, S. & Madan, M. 1997. Studied on cultivation, biological efficiency and chemical analysis of *Pleurotus sajor-caju* (FR.) Singer on different bio-wastes. *Acta Biotechnology*, v. 17, n. 2, p. 107-122, 1997.

Pauli, P. A., 2010 – Avaliação da composição química, compostos bioativos e actividade antioxidante em cogumelos comestíveis. São Paulo: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Tese de Mestrado.

Pedroso, A. L., 2003. Produção de *Pleurotus* spp em resíduo da indústria do cigarro e avaliação do substrato exaurido (Doutoral dissertation, Universidade Federal do Paraná).

Philippoussis, A., Zervakis, G., Diamantopoulou, P., 2001. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 17, 191–200.

Prassad, S.; Singh, A.; Joshi, H. C. 2007 Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. *Resources, Conservation and Recycling*, Amsterdam, v.50, p.1-39.

Ragunathan, R., Swaminathan, K. 2003. Nutritional status of *Pleurotus* spp. Grown on various agro-wastes. *Food Chemistry*, v.80, p.371-375.

Rai, D. R. & Paul, S. 2007. Transient state in-pack respiration rates of mushroom under modified atmosphere packaging based on enzyme kinetics. *Biosystems Engineering*, 98, 310-326.

Rajaratnam, S., Shashireka, M.N., Bano, Z. 1992. Biopotentialities of the Basidiomycetes. *Advances in Applied Microbiology*, v. 37, p. 233-361.

Rajaratnam, S., Bano, Z., & Steinkraus, K. H. 1989. *Pleurotus* mushrooms. Part III. Biotransformations of natural lignocellulosic wastes: commercial applications and implications. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 28(1), 31-113.

Rajaratnam, S. e Bano, Z. 1987. *Pleurotus* mushrooms, part I A: morphology, life cycle, taxonomy, breeding and cultivation, *crc critical reviews*. In: Food Science and Nutrition, 26:157-223.

Rampinelli, J.R. 2009. Produção de *Pleurotus djamor* e avaliação de seu potencial nutricional. Universidade federal de Santa Catarina-Centro Tecnológico Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

Rampinelli, J.R., Silveira, M.L.L., Gern, R.M.M., Furlan, S.A., ninow, J.L, Wisbeck, E. 2010. Valor nutricional de *Pleurotus djamor* cultivado em palha de bananeira. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v. 21, n. 2, p. 197-202

Ramos AC, Sapata M.L., Ferreira A, Andrada L, Candeias, M. 2011 - Cultura de cogumelos sapróbios, *Agrorrrural*, 170-177pp.

Ramos, A.; Sapata, M.M.; Candeias, M.; Figueiredo, E. e Gomes, M.L. 2004a - Valorização de Resíduos Agrícolas na Cultura de Cogumelos do Género *Pleurotus*. III Seminário Agricultura Sustentável e Ambiente, U. Independente/C. Invest. e Des. Ambiente, Auditório Biblioteca Municipal Moita, Portugal.

Ramos, A. C., Sapata, M. M., Candeias, M., Figueiredo, E., & Gomes, M. L. 2004b. Cultura de Cogumelos do género *Pleurotus*. In *12º Congresso do Algarve, Tavira* (pp. 391-398).

Rangaswami, G., Kandaswami, T. K., & Ramasamy, K. 1975. *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer, a protein rich nitrogen fixing mushroom fungus. *Current science*.

Ranzani M.R.T.C., Sturion G.L. 1998.Avaliação da composição em aminoácidos de *Pleurotus* spp. cultivados em folha de bananeira. *Arch Latinoamer Nutr*, 48 (4): 339-48.

Raper, C. A. 1978. *Agaricus bitorquis* - Biological Nature. In: *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*, S. T. Chang & W. a Hayes, eds, p. 365-369. Academic Press, New York.

Reis, F.S.; Barros, L.; Martins, A.; Ferreira, I.C., 2012a. Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: an inter-species comparative study. *Food and Chemical Toxicology*. 50, 2 (2012a), 191-7.

Reis, F., Martins, A., Barros, L., Ferreira, I.C., 2012b.Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: a comparative study between in vivo and in vitro samples. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 50:1201–7. doi: 10.1016/j.fct.2012.02.013.

Regina, M.; Broetto, F.; Giovannozzi-Sermanni, G.; Marabotini, R.; Peranni, C.; Linde, G.A.; Colauto, N. B.; Paccola-Meirelles, L. D. 2009 - Oxidative enzymes activities from *Lentinula edodes* on agribusiness substrate. *Ciências Agrárias, Londrina*. 30, 4 , 881-888.

Ribas, L. C. C., De Mendonça, M. M., Camellini, C. M., & Soares, C. H. L. 2009. Use of spent mushroom substrates from *Agaricus subrufescens* (syn. *A. blazei*, *A. brasiliensis*) and *Lentinula edodes* productions in the enrichment of a soil-based potting media for lettuce (*Lactuca sativa*) cultivation: Growth promotion and soil bioremediation. *Bioresource technology*, 100(20), 4750-4757.

Ricardo,S.C.N. 2013.Quantificação do teor de ergosterol por HPLC-UV e determinação da atividade antioxidante no cogumelo *Pleurotus ostreatus* comercializado e cultivado em borras de café e palha de trigo.Coimbra:Universidade de Coimbra, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra,Tese de Mestrado.

Rodrigues, F. 2009."Etnobotânica e Desenvolvimento sustentável: Recordar o Passado para Sustentar o Futuro."- 1ª Congresso de Desenvolvimento Regional de Cabo Verde.

Rollan, M.G. 2003. *Cultivo de setas y trufas*. Ediciones Mundi-Prensa, 4.ª ed.,239 p.

Romero, J.; Rodriguez, M.; Pérez, R. 2000 - *Pleurotus ostreatus*. Importancia y tecnología de cultivo. Universidad de cienfuegos "Carlos Rafael Rodríguez". Cuatro Caminos ciudad de cienfuegos. 155 págs.

Rosado, F.R., Carbonero, E.R., kemmelmeier, C., Tischer, C.A., Gorin, P.A.J., Iacomini, M. 2002. A partially 3-O-methylated, D-galactan and D-mannan from *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. *FEMS Microbiology Letters*, v. 212, p. 261-265.

Sales-Campos, C., de Carvalho, C. S. M., de Aguiar, L. V. B., de Almeida Minihoni, M. T., & de Andrade, M. C. N. 2013. Cultivo in vitro de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de bananeira In vitro cultivation of *Pleurotus ostreatus* in banana tree residues. *AMBIÊNCIA*, 9(3), 651-660.

Sales-Campos, C., Minihoni, M. T. A., & Andrade, M. C. N. 2010. Produtividade de *Pleurotus ostreatus* em resíduos da Amazônia. *Interciencia*, 35(3), 198-201.

Sales-Campos, C.; Oliveira, L. A.; Araujo, L. M.; Varejão, M. J. C.; Andrade, M. C. N. Composição mineral de uma linhagem de *Pleurotus ostreatus* cultivada em resíduos madeiros e agroindustriais da região amazônica. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.29(4), p. 868-872, out.-dez. 2009.

Salgado, J. M., Danieli, F., Regitano-D'Arce, M. A. B., Frias, A., & Mansi, D. N. 2008. O óleo de abacate (*Persea americana* Mill) como matéria-prima para a indústria alimentícia. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28, 20-26.

Sánchez, C. 2010. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85:1321–1337. doi: 10.1007/s00253-009-2343-7

Sánchez, C. 2009 Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances* 27(2):185–194. doi: 10.1016/j.biotechadv.2008.11.001

Sánchez, J.E.; Royse, D. 2001. *La biología y el cultivo de Pleurotus* soo. El Colegio de la Frontera Sur.

Santos, V. M. C. S., Cassou, R., Gern, R. M. M., Mendonça, M. M., & Furlan, S. A. 2000. Estudo da fração de inóculo e da suplementação de palha de bananeira para a produção de *Pleurotus sajor-caju*. *Rev. Saúde e Amb*, 1 (1), 64-67

Sapata, M.M.; Ramos, A.C.; Ferreira, A.; Andrada, L.; Candeias, M. 2011– Produção de três espécies de cogumelos *Pleurotus* e avaliação da qualidade em atmosfera modificada. *Rev. de Ciências Agrárias*, 34(1): 57-64.

Sapata, M., Ramos, C., Ferreira, A., Andrada, L., & Candeias, M. 2010. Processamento mínimo de cogumelos do gênero *pleurotus*. *Revista de Ciências Agrárias*, 33(2), 15-26.

Schiesser, A. 1989 Fine structure and mechanical properties of straw filaments invaded by *Pleurotus ostreatus*. *Biological Wastes*, v. 27, p. 87-100, 1989.

Schmidt, P., Wechsler, F. S., Nascimento, J. S. D., & Vargas Junior, F. M. D. 2003. Tratamento do feno de braquiária pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 1866-1871.

Seleguean, M., Putz, M. V., & Rugea, T. 2009. Effect of the polysaccharide extract from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* against infectious bursal disease virus. *International journal of molecular sciences*, 10(8), 3616-3634.

Shashirekha, M.N., Rajarathnam, S., Bano, Z. 2005. Effects of supplementing rice straw growth substrate with cotton seeds on the analytical characteristics of the mushroom, *Pleurotus florida* (Block & Tsao). *Food Chemistry*, v.92, p.255- 259.

Silveira, M.L.L., 2003. Comparação entre o desempenho de inóculo sólido e inóculo líquido para o cultivo de *Pleurotus ostreatus* DSM 1833. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 90p.

Silveira, V.D., 1996. Micologia, 5ª edição, Editora Universidade Rural.

Singh, R.P., Tandon, I.N., 1987. Screening of suitable substrate for production of *Pleurotus Xabellatus* (Brek & Br) SAAC. In: Kaul, T.N., Kapur, B.M. (Eds.), Proceedings of the International conference on science and cultivation technology of edible fungi. *Regional Research Laboratory, Jammu Tawi, India*, pp. 90–92.

Stamets, P. 2000. Growing gourmet and medicinal mushrooms. 3rd ed., pp. 614, Ten Speed Press: Berkley. ISBN: 978-1580081757.

Stamets, P.; Chilton, J.S. 1983. The mushroom cultivator. Washington: Agarikon Press Olimpia, 1983. 415p.

Sturion, G.L. 1994. *Utilização da folha de bananeira como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis (Pleurotus spp.)*. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 147p.

Sturion GL, Oetterer M. 1995. Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.) originados de cultivos em diferentes substratos. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 15(2): 189-93.

Suárez Arango, C., Nieto, I. 2013 Biotechnological cultivation of edible macrofungi: An alternative for obtaining nutraceuticals. *Revista iberoamericana de micología* 30:1–8. doi: 10.1016/j.riam.2012.03.011

Taherzadeh, M.J., Karimi, K. (2008) Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* 9:1621-1651. doi: 10.3390/ijms9091621

Tamanini, C., de Oliveira Hauly, M.C.O. 2004 "Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol." *Semina: Ciências Agrárias* 25.4: 315-330.

Tango, J. S., Carvalho, C. R. L., & Soares, N. B. 2004. Caracterização física e química de frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26(1), 17-23.

Tano, K.; Arul, J.; Doyon, G e Castaigne, F. 1999 – Atmospheric Composition and quality of fresh mushrooms in modified atmosphere packages as affected by storage temperature abuse. *J. Food Sci.*, 64, 6: 1073-1077.

Tao, F., Zhang, M. Hangqing, Y., & Jincai, S. 2006. Effects of diferente storage conditions on chemical and physical properties of white muhsrooms after vacuum cooling. *Jornal of Food Engineering*, 77, 545-549.

Thomas, G.V., Prabhu, S.R., Reeny, M.Z., Bopaiah, B.M. 1998. Evaluation of lignocellulosic biomass from coconut palm as substrate for cultivation os *Pleurotus sajorcaju* (Fr.) Singer. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 14, p. 879-882.

Tisdale, T. E.; Miyasaka, S. C.; Hemmes, D. E. ,2006. Cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on wood substrates in Hawaii. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Oxford, v. 22, p. 201-206.

Trabulsi, Luiz Rachid, 1991. Microbiologia. 2ª Edição. São Paulo: Atheneu.



Tsiklauri, N. D., Khardziani, T. S., Kachlishvili, E. T., & Elisashvili, V. I. 1999. Cellulase and xylanase activities of higher Basidiomycetes during bioconversion of plant raw material depending on the carbon source in the nutrient medium. *Applied biochemistry and microbiology*, 35(3), 291-295.

Tong, H., Xia, F., Feng, K., Sun, G., Gao, X., Sun, L., ... & Sun, X. 2009. Structural characterization and in vitro antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*. *Bioresource Technology*, 100(4), 1682-1686.

Valadares Filho, S. C. & Detmann, E., (2010). On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62(4), 980-984.

Vamanu, E. 2012 Antioxidant properties of polysaccharides obtained by batch cultivation of *Pleurotus ostreatus* mycelium. *Natural product research*: 1-4. ISSN: 1478-6419, doi: 10.1080/14786419.2012.704376

Vaz, J.A., Barros, L., Martins, A., Santos-Buelga, C., Vasconcelos, M.H., Ferreira, I.C.F.R. (2011) Chemical composition of wild edible mushrooms and antioxidants properties of their water soluble polysaccharidic and ethanolic fractions. *Food Chemistry* 126(2):610-616. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.11.063

Vieira, E., Paz, M.F., Giovanni, R.N. 2007. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de uva pela técnica Jun-Cao. In: CD Room XVI Simpósio Nacional de Bioprocessos, Curitiba, PR.

Vieira, F. R., 2012. Potencial de uso de gramíneas como substrato pasteurizado no cultivo do cogumelo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. Dissertação apresentada a Faculdade de Ciência Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do Título de Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura) BOTUCATU-SP: xv-115.

Vilaró, M., C. Soto-Velazco, M. Rodríguez Hernández, L. Guzmán-Dávalos, W. Alonso Broche y L. Villaseñor, 1995. Experiencia conjunta Cuba-México en el cultivo de especies de *Pleurotus*. *Revista Iberoamericana de Micología* 12: 9-11

Villas-Bôas, S.L.; Esposito, E.; Mitchell, D. A. 2002. Microbial conversion of lignocellulosic residues for production of animal feeds. *Animal Feed Science and Technology*, v. 98, n. 1, p. 1-12.

Wang D, Sakoda A, Suzuki M. 2001 Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. *Bioresour. Technol.*, 78(3): 293-300.

Willett, W. C. 2001. Diet and cancer: one view at the start of the millennium. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 10(1), 3-8.

Williams, L.O. 1976. The botany of the avocado and its relatives. In: *International Tropical Fruit Short. Proceedings...* Gainesville, USA. p. 9-15.

Wolff, E.R.S., Wisbeck, E., Silveira, M.L.L., Gern, R.M.M., Pinho, M.S.L., Furlan, S.A. 2008. Antimicrobial and Antineoplastic Activity of *Pleurotus ostreatus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.151, n.2-3, p. 402-412.

Yilmaz, N.; Solmaz, M.; Türkel, I.; Elmastas, M. Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey. *Food Chemistry*, v.99, p.168-174, 2006.

Zadrazil, F. 1980.. Influence of ammonium nitrate and organic supplements on the yield of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 9, p. 31-35, 1980.

Zadrazil, F., & Brunnert, H. 1981. Investigation of physical parameters important for the solid state fermentation of straw by white rot fungi. *European journal of applied microbiology and biotechnology*, 11(3), 183-188.

Zadrazil, F. & Kurtzman, R. H. 1984. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. In: Chang, S. T. & Qutmio, T. H. *Tropical Mushrooms*. Hong Kong, the Chinese Univ. Press., 493 p., 1984.

Zervakis, G., Philippoussis, A., Ioannidou, S., Diamantopoulou, P., 2001. Mycelial growth kinetics and optimum temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia Microbiol.* 46, 231–234.

Zhang, R.; Li, X.; Fadel, J. G. 2002. Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. *Bioresource Technology*, London, v. 82, p. 277-284.

Zhang, M., Cheung, P.C.K., Zhang, L., Chiu, C.M., Ooi, V.E.C. 2004a. Carboxymethylated  $\beta$ -glucans from mushroom sclerotium of *Pleurotus tuberregium* as novel water-soluble anti-tumor agent. *Carbohydrate Polymers*, v. 57, p.319-325.

Zhang, M., Cheung, P. C., Ooi, V. E., & Zhang, L. 2004b. Evaluation of sulfated fungal  $\beta$ -glucans from the sclerotium of *Pleurotus tuber-regium* as a potential water-soluble anti-viral agent. *Carbohydrate research*, 339(13), 2297-2301.

Zhang, P.; Whistler, R. L.; Bemiller, J. N.; Hamaker, B. R. 2005. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility a review. *Carbohydrate Polymers* 59:443–458.

Xu, X., Yan, H., Chen, J., Zhang, X. (2011) Bioactive proteins from mushrooms. *Biotechnology advances* 29: 667–74. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.05.003

<http://www.abitrigo.com.br/index.php?mpg=02.00.00> (Acedido em 23 Julho de 2015).

<https://blogbananeira.wordpress.com/about/> (Acedido em 21 Julho de 2015).

[http://ec.europa.eu/environment/news/efe/articles/2014/08/article\\_20140806\\_01\\_pt.htm](http://ec.europa.eu/environment/news/efe/articles/2014/08/article_20140806_01_pt.htm) (Acedido em 21 Julho de 2015).

<http://www.energy.wsu.edu/documents/renewables/WheatstrawForEthanol.pdf> (Acedido em 12 Setembro de 2015).

<http://www.gera.com.pt/> (Acedido em 11 Agosto de 2015)

<http://www.micobiotas.fc.ul.pt/CentroMicologia> (Acedido em 21 Junho de 2015)

<http://mundobiomedico.com.br/2014/01/16/imunidade-adquirida/> (Acedido em 21 Julho de 2015).

<http://nutritiondata.self.com/facts/vegetables-and-vegetable-products/3050/2> (Acedido em 14 Julho de 2015).

<http://pt.wikipedia.org/wiki/Bananeira> (Acedido em 23 Julho de 2015).

[https://pt.wikipedia.org/wiki/Muhammad\\_Yunus](https://pt.wikipedia.org/wiki/Muhammad_Yunus) (Acedido em 28 de Setembro de 2015)

<http://www.quadrante-natural.pt/Produtos/PP%20380.pdf> (Acedido em 15 Maio de 2015).

<http://www.kissankerala.net/kissan/kissancontents/alied.jsp#mush> (Acedido em 21 Julho de 2015).

## Anexos

## ANEXO I

ANEXO I – Amplitude de temperaturas para realizar/otimizar o desenvolvimento micelial (dm) e a frutificação para as espécies diferentes de cogumelos do género *Pleurotus spp.*, com as técnicas apropriadas para a preparação do substrato (Adaptado: Oei, 2006, variante adaptada pelo autor para género *Pleurotus spp.*)

Espécie de cogumelo/Nome Comum	$T_{dm}$	$T_{dm \text{ óptimo}}$	$T_{\text{frutificação}}$	Técnicas
<i>Pleurotus abalonus</i> /cogumelo gigante, caetetuba, hiratake, cogumelo ostra	15-35	20-30	25-30	2,3
<i>Pleurotus cystidiosus</i> /cogumelo gigante, caetetuba, hiratake, c.ostra	10-35	25-28	25-30	2,3
<sup>^</sup> <i>Pleurotus ostreatus</i> /cogumelo ostra, pleuroto ostreáceo, shimeji	5-35	20-25	5-25	2,3
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	5-35	20-25	13-20	2,3
<i>Pleurotus cornucopiae</i> #/cogumelo trombeta	15-35	20-28	15-25	2,3
<i>Pleurotus djamor</i>	15-35	24-30	20-30	2,3
<i>Pleurotus eryngii</i> /cogumelo-rei, cardoncelo	10-35	20-25	15-22	2,3

#: incluindo *Pleurotus citrinopileatus*

<sup>^</sup>: incluindo sinónimos prováveis: *P.ostreatus*, *P.salmoneo-stramineus*, *P.flabellatus*

$T_{dm}$ : Amplitude na qual o micélio permanece viável; a rapidez de crescimento reduz-se tanto na extremidade alta como na extremidade baixa.

$T_{dm \text{ óptimo}}$ : Amplitude óptima de temperatura requerida para a frutificação; a temperatura mais importante.

Técnicas para a preparação do substrato:

1 Lenhos de madeira

2 Substrato pasteurizado ou pré-aquecido

3 Substrato esterilizado

## ANEXO II

### Fórmulas utilizadas na validação da metodologia

$$1. \text{ Produção (P) (\%)} = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)}}{\text{Massa fresca de substrato (g)}} \times 100$$

$$2. \text{ Eficiência Biológica (E.B.) (\%)} = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)}}{\text{Massa seca de substrato (g)}} \times 100$$

### Anexo III

Análise Estatística da Produção do 1.º Fluxo (Lotes I, II e III).

ANOVA e o Teste de correlações múltiplas (Scheffe)

#### Descriptives

Peso dos cogumelos (g)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Lote 1	10	10,5500	,19003	,06009	10,4141	10,6859	10,30	10,80
Lote 2	10	13,3200	2,68610	,84942	11,3985	15,2415	10,80	18,50
Lote 3	10	11,0900	,54661	,17285	10,6990	11,4810	10,00	11,90
Total	30	11,6533	1,95708	,35731	10,9225	12,3841	10,00	18,50

#### ANOVA

Peso dos cogumelos (g)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43,125	2	21,562	8,568	,001
Within Groups	67,950	27	2,517		
Total	111,075	29			

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Peso dos cogumelos (g) Scheffe

(I) Lotes	(J) Lotes	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Lote 1	Lote 2	-2,77000*	,70946	,002	-4,6075	-,9325
	Lote 3	-,54000	,70946	,751	-2,3775	1,2975
Lote 2	Lote 1	2,77000*	,70946	,002	,9325	4,6075
	Lote 3	2,23000*	,70946	,015	,3925	4,0675
Lote 3	Lote 1	,54000	,70946	,751	-1,2975	2,3775
	Lote 2	-2,23000*	,70946	,015	-4,0675	-,3925

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Anexo IV

Análise Estatística da Produção do 2.º Fluxo (Lotes I, II e III).

ANOVA e o Teste de correlações múltiplas (Scheffe)

### Descriptives

Peso dos cogumelos (g)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for		Minimum	Maximum
					Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
Lote 1	10	6,1400	1,09666	,34679	5,3555	6,9245	4,20	7,80
Lote 2	10	6,6200	1,41641	,44791	5,6068	7,6332	5,40	9,30
Lote 3	10	5,0000	,49216	,15563	4,6479	5,3521	4,10	5,70
Total	30	5,9200	1,24441	,22720	5,4553	6,3847	4,10	9,30

### ANOVA

Peso dos cogumelos (g)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13,848	2	6,924	6,019	,007
Within Groups	31,060	27	1,150		
Total	44,908	29			

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Peso dos cogumelos (g)

Scheffe

(I) Lotes	(J) Lotes	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Lote 1	Lote 2	-,48000	,47966	,612	-1,7223	,7623
	Lote 3	1,14000	,47966	,077	-,1023	2,3823
Lote 2	Lote 1	,48000	,47966	,612	-,7623	1,7223
	Lote 3	1,62000*	,47966	,009	,3777	2,8623
Lote 3	Lote 1	-1,14000	,47966	,077	-2,3823	,1023
	Lote 2	-1,62000*	,47966	,009	-2,8623	-,3777

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Anexo V

Análise Estatística da Eficiência Biológica 1.º Fluxo (Lotes I, II e III).

ANOVA e o Teste de correlações múltiplas (Scheffe)

### Descriptives

Eficiência Biológica

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for		Minimum	Maximum
					Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
Lote 1	10	20,6000	,38006	,12019	20,3281	20,8719	20,10	21,10
Lote 2	10	26,0000	5,25801	1,66273	22,2386	29,7614	21,10	36,10
Lote 3	10	21,6700	1,07708	,34060	20,8995	22,4405	19,50	23,20
Total	30	22,7567	3,82403	,69817	21,3287	24,1846	19,50	36,10

### ANOVA

Eficiência Biológica

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	163,513	2	81,756	8,472	,001
Within Groups	260,561	27	9,650		
Total	424,074	29			

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Eficiência Biológica

Scheffe

(I) Lotes	(J) Lotes	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Lote 1	Lote 2	-5,40000*	1,38927	,002	-8,9983	-1,8017
	Lote 3	-1,07000	1,38927	,746	-4,6683	2,5283
Lote 2	Lote 1	5,40000*	1,38927	,002	1,8017	8,9983
	Lote 3	4,33000*	1,38927	,016	,7317	7,9283
Lote 3	Lote 1	1,07000	1,38927	,746	-2,5283	4,6683
	Lote 2	-4,33000*	1,38927	,016	-7,9283	-,7317

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



## Anexo VI

Análise Estatística da Eficiência Biológica 1.º Fluxo (Lotes I, II e III).

ANOVA e o Teste de correlações múltiplas (Scheffe)

### ANOVA

Eficiência Biológica

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51,944	2	25,972	5,873	,008
Within Groups	119,408	27	4,423		
Total	171,352	29			

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Eficiência Biológica

Scheffe

(I) Lotes	(J) Lotes	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Lote 1	Lote 2	-,9400	,9405	,612	-3,376	1,496
	Lote 3	2,2000	,9405	,083	-,236	4,636
Lote 2	Lote 1	,9400	,9405	,612	-1,496	3,376
	Lote 3	3,1400*	,9405	,009	,704	5,576
Lote 3	Lote 1	-2,2000	,9405	,083	-4,636	,236
	Lote 2	-3,1400*	,9405	,009	-5,576	-,704

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Anexo VII

Análise Estatística das médias do comprimento do pé (cm) dos cogumelos no 1º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III)

ANOVA e o Teste de correlações múltiplas (Scheffe)

### Descriptives

Comprimento do pé (cm)

Comprimido do pe (cm)								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval		Minimum	Maximum
					for Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
Lote 1	10	1,0100	,29981	,09481	,7955	1,2245	,50	1,40
Lote 2	10	2,9900	1,10096	,34815	2,2024	3,7776	1,30	4,90
Lote 3	10	2,2900	,68060	,21523	1,8031	2,7769	1,60	3,80
Total	30	2,0967	1,11494	,20356	1,6803	2,5130	,50	4,90

### ANOVA

Comprimento do pé (cm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20,163	2	10,081	17,133	,000
Within Groups	15,887	27	,588		
Total	36,050	29			

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Comprimento do pé (cm)

Scheffe

(I) Lotes	(J) Lotes	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Lote 1	Lote 2	-1,98000*	,34305	,000	-2,8685	-1,0915
	Lote 3	-1,28000*	,34305	,004	-2,1685	-,3915
Lote 2	Lote 1	1,98000*	,34305	,000	1,0915	2,8685
	Lote 3	,70000	,34305	,144	-,1885	1,5885
Lote 3	Lote 1	1,28000*	,34305	,004	,3915	2,1685
	Lote 2	-,70000	,34305	,144	-1,5885	,1885

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Anexo VIII

Análise Estatística das médias do comprimento do pé (cm) dos cogumelos no 2º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III)

ANOVA e o Teste de correlações múltiplas (Scheffe)

### Descriptives

Comprimento do pé (cm)

Comprimido de ps (cm)								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for		Minimum	Maximum
					Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
Lote 1	10	1,3700	,72732	,23000	,8497	1,8903	,40	2,50
Lote 2	10	1,7200	1,10232	,34858	,9314	2,5086	,70	3,70
Lote 3	10	1,1000	,73333	,23190	,5754	1,6246	,50	2,60
Total	30	1,3967	,88024	,16071	1,0680	1,7254	,40	3,70

### ANOVA

Comprimento do pé (cm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,933	2	,966	1,270	,297
Within Groups	20,537	27	,761		
Total	22,470	29			

## Anexo IX

Análise Estatística das médias do diâmetro do chapéu (cm) dos cogumelos no 1º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III)

ANOVA e o Teste de correlações múltiplas (Scheffe)

### Descriptives

Diâmetro do Chapéu (cm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Lote 1	10	3,0700	,85512	,27041	2,4583	3,6817	1,60	4,20
Lote 2	10	7,1600	1,46227	,46241	6,1140	8,2060	3,90	8,80
Lote 3	10	2,0400	,60590	,19160	1,6066	2,4734	1,10	3,00
Total	30	4,0900	2,46218	,44953	3,1706	5,0094	1,10	8,80

### ANOVA

Diâmetro do Chapéu (cm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	146,678	2	73,339	67,979	,000
Within Groups	29,129	27	1,079		
Total	175,807	29			

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diâmetro do Chapeu (cm)

Scheffe

(I) Lotes	(J) Lotes	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Lote 1	Lote 2	-4,09000*	,46451	,000	-5,2931	-2,8869
	Lote 3	1,03000	,46451	,105	-,1731	2,2331
Lote 2	Lote 1	4,09000*	,46451	,000	2,8869	5,2931
	Lote 3	5,12000*	,46451	,000	3,9169	6,3231
Lote 3	Lote 1	-1,03000	,46451	,105	-2,2331	,1731
	Lote 2	-5,12000*	,46451	,000	-6,3231	-3,9169

\*, The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Anexo X

Análise Estatística das médias do diâmetro do chapéu (cm) dos cogumelos no 2º fluxo de produção nos 3 lotes de substratos (I,II e III)

ANOVA e o Teste de correlações múltiplas (Scheffe)

### Descriptives

Comprimento do pé (cm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for		Minimum	Maximum
					Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
Lote 1	10	1,3700	,72732	,23000	,8497	1,8903	,40	2,50
Lote 2	10	1,7200	1,10232	,34858	,9314	2,5086	,70	3,70
Lote 3	10	1,1000	,73333	,23190	,5754	1,6246	,50	2,60
Total	30	1,3967	,88024	,16071	1,0680	1,7254	,40	3,70

### ANOVA

Comprimento do pé (cm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,933	2	,966	1,270	,297
Within Groups	20,537	27	,761		
Total	22,470	29			

# Anexo XI

Comparação entre os parâmetros morfométricos (comprimento do pé, em cm, e diâmetro do chapéu, em cm) no Lotes I na produção total (nos dois fluxos)

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Comprimento do pé (cm)	1,0100	10	,29981	,09481
	Diâmetro do Chapéu (cm)	3,0700	10	,85512	,27041

**Paired Samples Test**

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval				
					of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Comprimento do pé (cm) - Diametro do Chapeu (cm)	-2,06000	,55618	,17588	-2,45787	-1,66213	-11,713	9	,000

# Anexo XII

Comparação entre os parâmetros morfométricos (comprimento do pé, em cm, e diâmetro do chapéu, em cm) no Lotes II na produção total (nos dois fluxos)

## Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Comprimento do pé (cm)	2,9900	10	1,10096	,34815
	Diâmetro do Chapéu (cm)	7,1600	10	1,46227	,46241

## Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Comprimento do pé (cm) - Diâmetro do Chapéu (cm)	-4,17000	,65836	,20819	-4,64097	-3,69903	-20,029	9	,000

### Anexo XIII

Comparação entre os parâmetros morfométricos (comprimento do pé, em cm, e diâmetro do chapéu, em cm) no Lotes III, na produção total (nos dois fluxos)

#### Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Comprimento do pé (cm)	2,2900	10	,68060	,21523
	Diâmetro do Chapéu (cm)	2,0400	10	,60590	,19160

#### Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Comprimento do pé (cm) - Diâmetro do Chapéu (cm)	,25000	,86056	,27213	-,36560	,86560	,919	9	,382



# Anexo XIV

Análise Estatística entre os parâmetros morfométricos (comprimento do pé, em cm, e diâmetro do chapéu, em cm) nos três Lotes, na produção total (primeiro fluxo).

**Model Summary**

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,633 <sup>a</sup>	,400	,379	1,94020

a. Predictors: (Constant), Comprimento do pé (cm)

**ANOVA<sup>a</sup>**

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1 Regression	70,404	1	70,404	18,703	,000 <sup>b</sup>
Residual	105,403	28	3,764		
Total	175,807	29			

a. Dependent Variable: Diametro do Chapéu (cm)

b. Predictors: (Constant), Comprimento do pé (cm)

**Coefficients<sup>a</sup>**

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
1 (Constant)	1,160	,765		1,517	,140
Comprimento do pé (cm)	1,397	,323	,633	4,325	,000

a. Dependent Variable: Diametro do Chapéu (cm)

# Anexo XV

Análise Estatística entre os parâmetros morfométricos (comprimento do pé, em cm, e diâmetro do chapéu, em cm) nos três Lotes, na produção total (segundo fluxo).

**Model Summary**

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,962 <sup>a</sup>	,925	,922	,5554

a. Predictors: (Constant), Comprimento do pé (cm)

**ANOVA<sup>a</sup>**

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	105,812	1	105,812	343,021	,000 <sup>b</sup>
	Residual	8,637	28	,308		
	Total	114,450	29			

a. Dependent Variable: Diametro do Chapéu (cm)

b. Predictors: (Constant), Comprimento do pé (cm)

**Coefficients<sup>a</sup>**

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	,572	,193		2,974	,006
	Comprimento do pé (cm)	2,170	,117	,962	18,521	,000

a. Dependent Variable: Diametro do Chapéu (cm)